

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09731

研究課題名(和文)慢性腎臓病に伴う血管石灰化における腸内細菌由来のエンドトキシンの役割に関する研究

研究課題名(英文) Roles of endotoxin derived from gut microbiota in vascular calcification associated with chronic kidney disease

研究代表者

塩井 淳 (SHIOI, ATSUSHI)

大阪市立大学・大学院看護学研究科・教授

研究者番号：90260801

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病に伴う血管石灰化の発症におけるLPSの役割を明らかにするため、アデニン負荷による腎不全を野生型マウス(C3H/HeN)およびLPS低応答性マウス(C3H/HeJ)に惹起し血管石灰化を比較したところ、大動脈石灰化病変の割合は、C3H/HeNマウスに比してC3H/HeJマウスにおいて有意に高かった。ヒト大動脈血管平滑筋細胞(HASMC)の石灰化は、LPS添加により石灰化が促進された。また、アルカリホスファターゼ活性およびその遺伝子発現はLPS添加により用量依存的に上昇した。したがって、LPSは血管平滑筋細胞の石灰化に促進的に作用するが、腎不全での血管石灰化における意義は不明である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりエンドトキシン(LPS)の血管石灰化における重要性が明らかにされた。エンドトキシンは慢性腎臓病だけでなく、様々な代謝性疾患(肥満、糖尿病、脂質代謝異常症など)における動脈硬化症の危険因子として注目されている。血管石灰化はこれらの動脈硬化性疾患の発症・進展にも深く関わっていることから、血管石灰化におけるLPSの臨床的意義を明らかにすることは今後の重要な課題である。

研究成果の概要(英文)：We investigated the roles of lipopolysaccharide (LPS) derived from intestinal bacteria in the development of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD). Aortic medial calcified lesions were analyzed in LPS-responsive C3H/HeN and LPS-hyporesponsive C3H/HeJ mice with adenine-induced CKD. Alizarin red-stained calcified lesions were more prevalent in C3H/HeJ than C3H/HeN mice. Biochemical data revealed that renal impairment, hypocalcemia, and hyperphosphatemia are less severe in C3H/HeJ than C3H/HeN mice. On the other hand, we examined the effects of LPS on in vitro calcification of human aortic smooth muscle cells (HASMCs). In vitro calcification and alkaline phosphatase (ALP) activities in HASMC cultures were dose-dependently increased by LPS treatment. ALP mRNA levels were also up-regulated by LPS. Therefore, LPS may play an important role in the development of vascular calcification. However, its role in CKD-induced vascular calcification remains to be clarified.

研究分野：代謝内分泌

キーワード：動脈石灰化 慢性腎臓病 血管平滑筋細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血管石灰化は慢性腎臓病(CKD)における心血管病変の最大の特徴であり、心血管疾患の発症・進展に關与する重要な病態と理解されている。心血管疾患の発症に關与する血管病変には、アテローム硬化症(atherosclerosis)と動脈壁硬化(arterial stiffening)の2つが知られており、いずれの血管病変においても石灰化は合併し、それぞれアテローム硬化性石灰化および中膜石灰化と呼ばれている。これらの石灰化病変は病態の進展に關与し、心筋梗塞や心不全の発症を促進すると理解されている。CKDにおける血管石灰化の促進因子として、慢性炎症、酸化ストレス、カルシウム・リン代謝異常、内因性石灰化抑制因子の欠乏などが指摘されているが、血管石灰化の促進機序の詳細は未だ明らかにされていない。

以前からCKDにおける血管石灰化の発症・進展に慢性炎症状態が重要な役割を果たすと考えられている。最近、腸内細菌に由来するエンドトキシン(LPS)がCKDにおける慢性炎症状態に關与することが示されている(Hauser AB, et al. *Nephron Clin Pract*, 2015)。すなわち、CKDに關連する種々の要因が腸内細菌叢のアンバランス(dysbiosis)と腸管上皮バリアー機能の低下を惹起し、LPSの血中への移行を促進することによりエンドトキシンの血中レベルを上昇させる。血中LPSはLPS結合蛋白(LBP)と複合体を形成し、Toll-like receptor 4 (TLR4)を介して炎症反応を惹起する。血中エンドトキシン濃度はCKDの進展に伴い上昇し、透析患者では全身性炎症所見と強い相関關係を示すことが報告されている。したがって、CKDに伴うエンドトキシン血症が血管石灰化の促進に關与している可能性が示唆される。

血管石灰化の発症には、主に血管平滑筋細胞(VSMC)の骨芽細胞への形質転換が重要な役割を果たしている。我々は、*in vitro*での研究により、VSMCが骨芽細胞様の性格を獲得し、血管石灰化の発症に寄与することを明らかにしてきた。また、血管石灰化におけるマクロファージの役割をVSMCとの共存培養系を用いて検討し、VSMCの石灰化形質獲得に關与するマクロファージ由来の液性因子としてTNF- α およびoncostatin M(OSM)を同定した(Shioi A, et al. *Circ Res*, 2004; Kakutani Y, et al. *J Cell Biochem*, 2015)。一方、LPSがマウス大動脈由来のVSMCにおいてWntシグナルを介してalkaline phosphatase(ALP)の発現を誘導するだけでなく、マクロファージにおいてOSMの発現を強力に誘導することを確認している。また、apoE欠損(apoEKO)マウスの動脈硬化病変部に局在するマクロファージにOSMが発現することを見出している。したがって、LPSはVSMCへの直接作用およびマクロファージ由来のOSMを介する間接作用により血管石灰化の発症に關与している可能性が示唆される。

小腸型アルカリホスファターゼ(intestinal alkaline phosphatase: IAP)は主に小腸粘膜の上皮刷子縁に局在する酵素で腸管粘膜防御因子として働くと考えられている。IAPはLPSなどの腸内細菌由来の有毒物質を脱リン酸化することにより無毒化することが知られている。IAPがエンドトキシン血症を抑制することにより肥満・メタボリック症候群の発症を阻止することが報告されている(Kaliannan K, et al. *PNAS*, 2013)。しかし、CKDにおけるIAP発現の変化については明らかにされていない。したがって、小腸におけるIAP発現への介入がエンドトキシン血症の抑制を介してCKDにおける血管石灰化治療法の開発につながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、慢性腎臓病(CKD)に伴う血管石灰化(大動脈中膜石灰化及びプラーク石灰化)の発症・進展における腸内細菌由来のエンドトキシン(Lipopolysaccharide:LPS)の役割をアデニン負荷による腎不全モデルマウスを用いて明らかにすることを主な目的としている。次に、*in vitro*での血管平滑筋細胞を用いた石灰化実験系においてLPSの血管石灰化促進機構を明らかにする。最後に、CKDに伴うエンドトキシン血症の発症における小腸型アルカリホスファタ

ーゼ(Intestinal Alkaline Phosphatase: IAP)の役割を明らかにすることにより、IAP への介入による血管石灰化治療への応用の可能性を探る。

3. 研究の方法

(1) CKD による血管石灰化モデルの確立:

8 週齢の種々の系統のマウス[C3H/HeN (野生型)、C3H/HeJ (LPS 低応答性)、apoE 遺伝子欠損 (apoEKO)、DBA/2]に 0.2%アデニン + 高リン食 (Ca:1.0%, P:2.0%, Na:0.5%)を 12 週間負荷することにより CKD による血管石灰化モデルの作成を行った。アデニン・高リン食負荷後に大動脈石灰化病変をアリザリンレッド染色により評価した。解剖時に下大静脈より血液を採取し、血漿中のクレアチニン (Cr)、BUN、カルシウム (Ca)、リン (P)濃度を測定した。

(2) LPS の血管平滑筋細胞の骨芽細胞への分化誘導促進作用の検討:

ヒト血管平滑筋細胞(HVSMC)を骨芽細胞分化メデイウム (ODM)で 4 週間まで培養し、LPS 単独あるいは oncostatin M との同時添加により骨芽細胞への分化促進作用について評価した。骨芽細胞分化マーカーとして、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性および分化マーカー遺伝子 (Runx2, ALP, IBSP, BGP) の発現と in vitro での石灰化能 (アリザリンレッド染色および細胞層のカルシウム定量) について検討した。分化マーカー遺伝子の発現は real time RT-PCR 法により評価した。

4. 研究成果

(1) apoEKO apoEKO マウスにおける検討

15 週齢の雄性 apoE ノックアウトマウスに 0.2%アデニン + 高リン食(Ca;1.0%, P;2.0%, 0.5%;Na) (n=5) を 12 週間負荷したが、高リン食単独群 (n=4) に比して大動脈プラーク石灰化の増加を確認できなかった。

アデニン負荷により高リン食単独群 (n=4) に比して有意な腎機能の低下が認められた。また、血液検査では、アデニン + 高リン食群 (n=4) では、血清カルシウム値の有意な低下と血清リン値の有意な上昇が認められた。

(2) DBA/2 マウスにおける検討

DBA/2 雌性マウスに 0.2%アデニン + 高リン食 (n=8) を 12 週間負荷したが、高リン食単独群 (n=6)と同様に大動脈石灰化は認められなかった。0.2%アデニン + 高リン食 (n=8)により、高リン食単独群 (n=6)に比して有意な体重減少が確認された。

DBA/2 雄性マウスに 0.2%アデニン + 高リン食 (n=10) を 12 週間負荷すると、高リン食単独群に比して有意な体重減少が見られたが、大動脈石灰化は認められなかった。

(3) C3H/HeN および C3H/HeJ マウスにおける検討

10 週齢の C3H/HeN (n=10)および C3H/HeJ (n=10) マウス (雄性) に 0.2%アデニン + 高リン食 (各系統 n=5) を 12 週間負荷したところ、それぞれの系統の高リン食単独群 (各系統 n=5) に比して有意な体重減少が認められた。しかし、アデニン負荷群間およびコントロール群 (高リン食単独群) 間では、体重の有意な差は認められなかった。

血液生化学データでは、C3H/HeN および C3H/HeJ のいずれの系統においても、アデニン負荷によりコントロール群に比して BUN、Cre および P 値の上昇が認められた。しかし、アデニン負荷群間およびコントロール群間では、BUN、Cre および P 値に有意な差は認められなかった。一方、血清 Ca 値は、アデニン負荷群間で比較すると C3H/HeN マウスにおいて有意な低下が認められたが、コントロール群間では有意差はなかった。

大動脈石灰化をアリザリンレッド染色により検討すると、コントロール群では、両系統とも大動脈の石灰化を認めなかった。一方、アデニン負荷群においては、高度の大動脈石灰化は C3H/HeJ マウスでは 25% (1/4) に対して C3H/HeN マウスでは 40% (2/5) に観察された。

(4) C3H/HeN および C3H/HeJ マウスにおける検討

9 週齢の C3H/HeN (n=15) および C3H/HeJ (n=15) マウスに 12 週間 0.2%アデニンを含む高リン食 (Ca: 1.0%, P: 2.0%, Na:0.5%) を負荷することにより血管石灰化病変の程度を比較検討した。ただし、アデニン負荷により腎障害が惹起され、それに伴う体重減少が 16.0g 未満になった場合、アデニン不含の高リン食に変更し、逆に体重が 16.0g 以上に回復した場合は再度アデニン含有高リン食に変更するという操作を行った。実験終了時の生存率は C3H/HeN マウスが 40.0% (6/15)、C3H/HeJ マウスが 46.7% (7/15) であり、明らかな差は見られなかった。体重に関する有意な差は認めなかった (17.3 ± 0.53 g vs 16.9 ± 1.32 g)。大動脈石灰化病変の程度 (アリザリンレッドで染色される領域) は C3H/HeN マウスに比して C3H/HeJ マウスにおいて高度であった。大動脈および主要分枝における石灰化の割合は C3H/HeN マウスに比して C3H/HeJ マウスにおいて有意に高かった (2/5 vs 7/7) (Fisher exact test, $p < 0.05$)。血清データでは、C3H/HeN マウスに比して C3H/HeJ マウスでは、腎機能 (BUN, Cre) の低下およびミネラル代謝異常 (高リン血症、低カルシウム血症) の程度が有意に弱かった (Tukey's test, $p < 0.05$)。

以上の結果から、CKD モデルマウスにおける大動脈石灰化の発症・進展における LPS の役割を明らかにすることはできなかった。したがって、CKD-C3H/HeJ マウスにおける大動脈石灰化の促進には、LPS、腎機能低下、ミネラル代謝異常以外の因子が関与しているものと推察された。

(5) 血管平滑筋細胞における LPS の石灰化促進作用の解析

ヒト大動脈由来血管平滑筋細胞 (HASMC) を用いて *in vitro* での石灰化に対する LPS の作用について検討した。HASMC を骨芽細胞分化メディウム (ODM) 存在下で 4 週間培養することにより、*in vitro* での石灰化を誘導した。4 週間後の HASMC の石灰化をアリザリンレッド染色により評価したところ、ODM 単独に比して LPS (100 ng/ml あるいは 1000 ng/ml) の同時添加により石灰化が促進されることが確認された。また、細胞層のカルシウム沈着量も LPS の用量に依存して有意に増加した。同様に、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性も LPS の同時添加により用量依存的に上昇した。また、添加 2 週間後の骨芽細胞分化マーカー (Runx2, ALP, IBSP, BGP) の発現を real time RT-PCR 法により解析したところ、ALP の発現が LPS の同時添加により促進されたが、Runx2, IBSP, BGP の発現は ODM 単独添加に比してむしろ低下させた。

次に、oncostatin M による HASMC 石灰化促進系における LPS の石灰化促進効果を検討した。HASMC を ODM および oncostatin M (10 ng/ml) 存在下で培養すると、培養 4 日目には Runx2 および ALP などの骨芽細胞マーカーの発現が誘導され、8 日目には *in vitro* での石灰化が認められた。この系に LPS (100 ng/ml または 1000 ng/ml) を添加すると、4 日目には対照群に比して LPS 1000 ng/ml 添加群では有意な ALP の発現増加が ALP 染色および ALP 活性測定により認められた。さらに、8 日目には LPS が *in vitro* での石灰化を容量依存的に上昇させることが確認された。

以上の結果から LPS は培養平滑筋細胞における石灰化を促進することが明らかにされた。したがって、LPS は様々な病態で血管石灰化の促進因子として働いている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Shioi A, Morioka T, Shoji T, Emoto M	4. 巻 12
2. 論文標題 The inhibitory roles of vitamin K in progression of vascular calcification.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 E583
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu12020583	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fujimoto K, Shioi A, Miki Y, Kakutani Y, Morioka T, Shoji T, Emoto M, Inaba M	4. 巻 249
2. 論文標題 Adenosine attenuates aortic smooth muscle cell calcification through A3 adenosine receptor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tohoku J Exp Med	6. 最初と最後の頁 275-283
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1620/tjem.249.275	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nishimura M, Morioka T, Hayashi M, Kakutani Y, Yamazaki Y, Kurajoh M, Mori K, Fukumoto S, Shioi A, Shoji T, Inaba M, Emoto M	4. 巻 18
2. 論文標題 Plasma omentin levels are inversely associated with atherosclerosis in type 2 diabetes patients with increased plasma adiponectin levels: a cross-sectional study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cardiovascular Diabetes	6. 最初と最後の頁 167
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12933-019-0973-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miki Y, Morioka T, Shioi A, Fujimoto K, Sakura T, Uezono H, Kakutani Y, Ochi A, Mori K, Shoji T, Emoto M, Inaba M	4. 巻 516
2. 論文標題 Oncostatin M induces C2C12 myotube atrophy by modulating muscle differentiation and degradation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophysics Res Commun	6. 最初と最後の頁 951-956
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.06.143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morioka T, Emoto M, Imamura S, Kakitani Y, Yamazaki Y, Motoyama K, Mori K, Fukumoto S, Shioi A, Shoji T, Inaba M	4. 巻 15
2. 論文標題 Plasma polyunsaturated fatty acid profile is associated with vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diabetes Vasc Dis Res	6. 最初と最後の頁 352-355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1479164118774314	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shioi A, Ikari Y	4. 巻 25
2. 論文標題 Plaque Calcification During Atherosclerosis Progression and Regression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Atheroscler Thromb	6. 最初と最後の頁 294-303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.RV17020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuwamura Y, Shoji T, Okute Y, Yamazaki Y, Motoyama K, Morioka T, Mori K, Fukumoto S, Tsujimoto Y, Shioi A, Emoto M, Inaba M	4. 巻 28
2. 論文標題 Altered Serum n-6 Polyunsaturated Fatty Acid Profile and Risks of Mortality and Cardiovascular Events in a Cohort of Hemodialysis Patients.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Ren Nutr	6. 最初と最後の頁 54-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.jrn.2017.07.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sonoda M, Shoji T, Kuwamura Y, Okute Y, Naganuma T, Shima H, Motoyama K, Morioka T, Mori K, Fukumoto S, Shioi A, Shimono T, Fujii H, Kabata D, Shintani A, Emoto M, Inaba M	4. 巻 7
2. 論文標題 Plasma homocysteine and cerebral small vessel disease as possible mediators between kidney and cognitive functions in patients with diabetes mellitus.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-04515-w.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakura T, Morioka T, Shioi A, Kakitani Y, Miki Y, Yamazaki Y, Motoyama K, Mori K, Fukumoto S, Shoji T, Emoto M, Inaba M	4. 巻 16
2. 論文標題 Lipopolysaccharide-binding protein is associated with arterial stiffness in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cardiovasc Diabetol	6. 最初と最後の頁
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12933-017-0545-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morioka T, Emoto M, Yamazaki Y, Kurajoh M, Motoyama K, Mori K, Fukumoto S, Shioi A, Shoji T, Inaba M	4. 巻 9
2. 論文標題 Plasma soluble leptin receptor levels are associated with pancreatic b-cell dysfunction in patients with type 2 diabetes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig	6. 最初と最後の頁 55-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.12657.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okute Y, Shoji T, Hayashi T, Kuwamura Y, Sonoda M, Mori K, Shioi A, Tsujimoto Y, Tabata T, Emoto M, Inaba M	4. 巻 24
2. 論文標題 Cardiothoracic Ratio as a Predictor of Cardiovascular Events in a Cohort of Hemodialysis Patients.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Atheroscler Thromb	6. 最初と最後の頁 412-421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.36426.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 三木 祐哉, 森岡 与明, 塩井 淳, 佐倉 剛史, 角谷 佳則, 藤元 健太, 上殿 英記, 越智 章展, 森 克仁, 庄司 哲雄, 絵本 正憲, 稲葉 雅章
2. 発表標題 オンコスタチンMによるSTAT3経路を介した骨格筋萎縮への関与
3. 学会等名 第40回日本肥満学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森岡 与明, 絵本 正憲, 山崎 祐子, 角谷 佳則, 森 克仁, 福本 真也, 塩井 淳, 庄司 哲雄, 稲葉 雅章
2. 発表標題 5脂肪酸不飽和化酵素活性指標は2型糖尿病の動脈硬化合併症に關与する
3. 学会等名 第34回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤元 健太, 塩井 淳, 三木 祐哉, 角谷 佳則, 森岡 与明, 庄司 哲雄, 絵本 正憲, 稲葉 雅章
2. 発表標題 AdenosineはA3 receptorを介してERK1/2およびSTAT3のリン酸化を抑制することによりoncostatin Mによる血管平滑筋細胞の石灰化を抑制する
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 畑森 雅美, 森岡 与明, 林 麻里子, 角谷 佳則, 山崎 祐子, 森 克仁, 福本 真也, 塩井 淳, 庄司 哲雄, 絵本 正憲, 稲葉 雅章
2. 発表標題 Omentinは2型糖尿病のadiponectin高値群において動脈硬化に負に關連する
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 角谷 佳則, 絵本 正憲, 森 克仁, 越智 章展, 山崎 祐子, 森岡 与明, 福本 真也, 塩井 淳, 庄司 哲雄, 稲葉 雅章
2. 発表標題 2型糖尿病Diabetic Kidney Diseaseにおけるアルブミン尿を伴わない腎機能低下頻度の年代間比較
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤元健太、塩井淳、三木祐哉、角谷佳則、森岡与明、庄司哲雄、絵本正憲、稲葉雅章
2. 発表標題 AdenosineはA3 receptorを介してヒト血管平滑筋細胞によるin Vitroでの石灰化を抑制する
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
研究分担者	森岡 与明 (MORIOKA Tomoaki) (30382154)	大阪市立大学・大学院医学研究科・講師 (24402)	
研究分担者	庄司 哲雄 (SHOJI Tetsuo) (40271192)	大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授 (24402)	