

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11640

研究課題名(和文)パーキンソン病の非運動症状発現に関与する大脳皮質異領野間同期化機構の解明

研究課題名(英文)The underlying mechanisms of taste and olfactory impairments in Parkinson's disease model mice

研究代表者

佐藤 元(Sato, Hajime)

大阪大学・歯学研究科・助教

研究者番号：10432452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、パーキンソン病(PD)患者の非運動障害が、中枢神経系の器質的/機能的障害により誘発されている可能性を明らかにするため、薬物投与により作成したPDモデル動物を用いて検討を行った。その結果、殺虫農薬ロテノンを1週間鼻腔内へ連続投与したマウスでは、味や匂いに関する中枢の器質的障害が生じ、神経変性が進行する過程で味覚/嗅覚障害が引き起こされることが明らかとなった。また、PDモデルマウスにおける嗅粘膜と味神経の神経応答から、その末梢性機能は保持されていることが明らかとなった。以上の結果から、ロテノン鼻腔内投与マウスの味覚/嗅覚障害は中枢性の障害が強く関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、パーキンソン病(PD)モデルマウスにおける味覚障害の有無を調べた研究はなく、本研究は、PDモデルマウスにおける味覚障害とその器質的障害をはじめ明らかにした研究であり、PDにおける非運動障害発症機構を解明する点において極めて重要な学術的課題である。本研究成果は、味覚/嗅覚障害の新規治療法の開発や、PDの他の非運動障害の解明に大きく貢献でき、その社会的意義は高い。味覚/嗅覚は、私たちのQuality of lifeを高めるといふ点から非常に重要な感覚機能である。本研究成果は、生涯にわたる顎顔面口腔感覚機能保持に対する国民の意識を高め、国民の健康増進に繋がること期待される。

研究成果の概要(英文)：The prodromal Parkinson's disease (PD) is associated with aberrations of olfactory and taste function that precede the onset of motor symptoms. However, there are limited studies to clarify the involvement on olfactory and taste impairments of neurodegeneration in central nervous system. We addressed the olfactory and taste impairments in toxic PD model mice. The rotenone-induced mice had attenuated both olfactory and taste functions without any motor dysfunction. The rotenone administration led to the changes of tyrosine hydroxylase immunoreactive (TH-ir) neurons around olfactory bulb (OB), within the nucleus of solitary tract (NTS) and in the bitter taste area of the insular cortex (IC), but to retainments in substantial nigra and ventral tegmental area. Our findings suggest that TH-ir neurons in OB, NTS, and IC are shortly disrupted by the propagation of rotenone through nose-to-brain pathway, resulting in the olfactory and taste impairments without any Parkinson's like symptoms.

研究分野：神経科学

キーワード：味覚 嗅覚 農薬 中枢神経系 パーキンソン病

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病 (PD) は、ドパミン系障害に伴う単なる運動障害にとどまらず、感覚系、自律神経系、認知・精神機能に関わる多彩な非運動障害を高頻度に合併する全身性疾患である (Aarsland et al., 2008; Muzerengi et al., 2007; Tolosa et al., 2009)。Braak の PD 病理進展仮説では、運動障害の主な責任病巣と考えられる中脳黒質緻密部の α シヌクレイン (α -syn) 病変は 6 段階中のステージ初期には認められず、ステージ 3 において初めて認められる (Braak et al., 2003)。また、PD の臨床症状は、自律神経機能障害 嗅覚低下 レム睡眠行動異常症 パーキンソニズム (4 大運動障害) 認知機能低下 精神症状の順に進行する (Boeve, 2013)。さらに、これらの非運動障害の大部分はレポドパ抵抗性で、非ドパミン作動系に影響を及ぼす中枢神経系の病変に由来すると考えられている (Lim et al., 2009)。これらのことから、PD で発症する非運動障害の主な責任病巣は運動障害のそれとは異なる可能性がきわめて高い。

PD で発症する非運動障害の中でも、特に嗅覚障害は PD 患者の約 90% で生じ、PD 早期から認められる (Haehner et al., 2009; Doty, 2012)。また、PD のきわめて初期に認められる嗅球の病変が、梨状皮質や扁桃体等の上位中枢にも拡がるのが次第に明らかとなってきた (Sengoku et al., 2008; Takeda et al., 2009)。こうした結果は、嗅覚障害が単に嗅球の病理変化に由来するものではなく、中枢神経系の障害を基盤として生じている可能性を示唆している。一方、PD 患者では、嗅覚障害のみならず味覚障害も高頻度で併発することが近年報告されている (Paola et al., 2015; Doty et al., 2015)。患者評価における非運動症状の頻度を調べた研究では、PD 患者と健常者間のオッズ比は、他の非運動障害と比べて味覚障害で最も高値 (16.9) である (Claustre et al., 2015)。また、PD 患者では、単に味覚の消失 (Ageusia) だけでなく、味覚異常 (Dysgeusia)、味覚減退 (Hypogeusia)、自発性異常味覚 (Phantogeusia) など、非常に複雑な症状を呈することから (Ricatti et al., 2017; Sienkiewicz-Jarosz et al., 2005)、PD の味覚障害が単に末梢神経系あるいは末梢組織の病理学的変化に由来するだけではなく、中枢神経系における器質的/機能的変化から生じている可能性が高い。しかしながら、PD モデル動物における味覚障害の有無を調べた研究は、遺伝子操作を行った PD ショウジョウバエモデルを用いた研究のみであり (Poudel and Lee, 2018)、哺乳類の PD モデル動物を用いた研究はこれまでのところ報告されていない。

ロテノンは、ミトコンドリア呼吸鎖複合体-I の阻害を作用機序とする殺虫農薬であり、環境中で速やかに分解されることから、比較的安全な農薬とされてきた (Gupta and Milatovic, 2014)。しかし、この種の農薬を使用する農業従事者では、黒質ドパミン神経細胞脱落によるパーキンソン病発症リスクが高まることが報告されており (Tanner et al., 2011)、ロテノンは PD の誘発因子の 1 つであると考えられている。また、ロテノンをラット頸静脈内に慢性持続投与すると、黒質ドパミン神経の脱落を伴う運動障害やヒト PD の病理像と類似した α -syn の凝集が脳内に認められることから (Betarbet et al., 2000)、ロテノン投与動物は、ヒト PD と類似した PD モデル動物として注目されている。哺乳類におけるロテノンの腸管吸収や経皮吸収は弱いことから、これまでの先行研究では高濃度のロテノンを投与したモデル動物を用いたため、その生存率や再現性に関わる問題が提起されてきた。しかしながら、近年、低濃度のロテノン (0.35 mg/kg) をマウスの片側鼻腔内に 1 週間反復投与すると、酪酸臭に対する忌避行動の低下、嗅球 tyrosine hydroxylase (TH) 陽性細胞の消失ならびに嗅球の萎縮を示すことが報告された (Sasajima et al., 2015)。さらに、同じ方法で 2 週間反復投与したマウスでは、黒質ドパミン細胞の脱落はないが、その神経突起の変性が認められることが報告された (Sasajima et al., 2017)。

2. 研究の目的

本研究では、殺虫農薬ロテノンを低濃度鼻腔内投与した PD モデルマウスにおける味覚/嗅覚症状および運動症状の発症動態とその中枢神経系の変化を明らかにし、PD モデル動物の非運動障害に関与する中枢神経機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、低濃度のロテノン (0.35 mg/kg) を 1 日 1 回 1 週間、マウス鼻腔内に反復投与し、投与後の味覚、嗅覚および運動機能の変化を調べ、同時に中枢神経系に生じるチロシンヒドロキシラーゼ (TH) 陽性細胞の変化を検討した。以下、それぞれの項目に分けて研究方法の概要を列記する。

実験材料および方法

3-1. 実験動物

実験動物には、野生型 C57BL/6J 系マウス [雄性、20-25 週齢] (日本エスエルシー株式会社、浜松) を用いた。飼育環境は、室温 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、明暗サイクル 12 時間 (8:00-20:00 明期) での安定環境下で、自由摂食・自由飲水とした。なお、味覚機能テスト前日は自由摂食・23 時間の絶水とした。

3-2. 鼻腔内投与マウス

ロテノン (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した 0.1 M ロテノン溶液を生理食塩水で 70 倍希釈し、ロテノン懸濁液を作製した。イソフルランを用いて吸入麻酔を行ったマウスの右側鼻腔内に、ロテノン (0.35 mg/kg) を 1 日 1 回 (約 20 μl)、ペリス

タポンに接続したポリエチレン製マイクロチューブを用いて反復投与し、ロテノン投与マウス（ロテノン群）を作製した。一方、対照群として、マウス右側鼻腔内に 1% DMSO を 1 日 1 回（約 20 μ l）1 週間反復投与した Vehicle 鼻腔内投与マウス（Sham 群）を作製した。

3-3. 行動実験

3-3-1. 嗅覚機能テスト

Y 字形迷路装置を利用した匂いの忌避行動をもとに嗅覚機能を評価した。Y 字形迷路装置は 2 つのショートアームと 1 つのロングアームからなる。蒸留水あるいは 100% 酪酸 20 μ l を浸透させた濾紙を一方のショートアーム末端外側に留置した後、ロングアーム末端へマウスを置いた。その後、4 分間、マウスの自由行動を暗視下でビデオ撮影した。撮影した各ビデオフレームにおけるマウスの重心を MATLAB (Mathworks, MA) を用いて決定し、マウス重心座標の全軌跡を求め、各ショートアームにおける滞在時間を算出した。次に、滞在率 (%) [(酪酸付き濾紙を置いたショートアームでの滞在時間)/(2 つのショートアームでの総滞在時間) \times 100] を求め、鼻腔内投与前後での比較を行った。また、滞在率の変化量 (蒸留水付き濾紙に対する滞在率 - 酪酸付き濾紙に対する滞在率) を求め、2 群間での比較を行った。

3-3-2. 味覚機能テスト

1 ピンリッキングテスト装置（メルクエスト，富山）を用いたブリーフアクセステストをもとに味覚機能を評価した。味覚刺激として、蒸留水およびキニーネ溶液を用いた。最初に蒸留水を 3 回提示し、その後、7 種類の濃度 (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 mM) のキニーネ溶液を低濃度順に提示し、最後に蒸留水を 1 回提示するプロトコールを設定した。マウスの飲水開始から 10 秒間のリック数をカウントし、リック率 (%) [(各キニーネ濃度でのリック数 / 初めの蒸留水 3 回の平均リック数) \times 100] を算出した。ロテノン投与終了後 7~9 日目の平均リック率を求め、投与前後での比較を行ない、さらに、平均リック率の変化量 (投与後のリック率 - 投与前のリック率) を求め、2 群間での比較を行った。

3-3-3. 運動機能テスト

ロータロッド（室町機械，東京）を用いたロータロッドテストをもとに協調運動機能を評価した。40 rpm まで段階的に回転速度を上昇させ、ロッドからマウスが落下するまでの時間を計測し、投与前後での比較を行った。

3-4. 免疫組織化学実験

行動実験終了後、灌流固定を行い、凍結保護の完了した脳ブロックから 30 μ m 厚の連続冠状切片を作製し、抗 TH 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。嗅球 (bregma + 3.62 mm から + 4.52 mm)、黒質と腹側被蓋野 (bregma - 2.95, - 3.04, - 3.15 mm) および孤束核吻側部 (bregma - 6.36 mm から - 6.96 mm) における対象切片の TH 陽性細胞数を計測した。また、苦味応答性の細胞が存在するとされる不全顆粒性島皮質 (bregma + 0.19 mm, + 0.01, - 0.17 mm) の対象切片画像をバイナリデータに変換後、image J 画像解析ソフトウェアを用いて 1 画面上の TH 陽性神経繊維の占有率を計測し、2 群間での比較を行った。

3-5. 電気生理学実験

3-5-1. 嗅電図記録

深麻酔したマウスの嗅粘膜を剖出し、匂い刺激に対する末梢神経応答を記録した。リンガー液を注入した記録ガラス電極（塩化銀ワイヤー）を嗅粘膜に接触させ、100 ms 間匂い刺激を嗅粘膜に与えた。増幅装置 (Axopatch 1D, Axoninstruments) を用いて、得られた電気信号を 100 倍に増幅し、サンプリング周波数 2 kHz で 20 秒間記録した。得られた神経応答のピークおよび 50% 減衰時間を求め、2 群間での比較を行った。

3-5-2. 全神経記録

深麻酔したマウスの鼓索神経を剖出し、味刺激に対する末梢神経応答を記録した。記録電極（塩化銀ワイヤー）を鼓索神経に接触させ、10 秒間味刺激を舌前方部に与えた。増幅装置 (Grass P511N, Grass instruments) を用いて、得られた電気信号を増幅し、サンプリング周波数 250Hz で連続記録した。得られた神経応答のピークから 5 秒後の振幅を求め、2 群間での比較を行った。

4. 研究成果

低濃度のロテノンをマウス鼻腔内に 1 週間反復投与すると、リック率が低下するキニーネの濃度範囲が、投与前と比べて高い濃度範囲に移行した。また、これらの範囲より低濃度もしくは高濃度のキニーネに対する平均リック率には変化を認めなかった。したがって、ロテノン 1 週間投与マウスでは、苦味感受性が低下することが明らかとなった。このマウスでは、先行研究と同様の嗅覚障害を呈したが、協調運動機能の障害を認めなかった。また、TH 陽性細胞の変化を免疫組織学的に検討したところ、ロテノン 1 週間投与マウスでは、黒質や腹側被蓋野の TH 陽性細胞数に著明な変化を認めなかったが、島皮質における TH 陽性線維数の減少および孤束核吻側部や嗅球における TH 陽性細胞数の減少を認めた。さらに、末梢の電気生理学の実験から、ロテノン 1 週間投与マウスにおける嗅覚や味覚の末梢機能は概ね正常であることが明らかとなった。一方、マウス鼻腔内に 4 週間ロテノンを反復投与すると、黒質および腹側被蓋野の TH 陽性細胞数が減少するとともに、協調運動機能の低下が認められた。

以上の結果から、1 週間ロテノンを鼻腔内投与されたマウスは、黒質や腹側被蓋野でドパミン系の神経変性が生じる前の状態で、中枢性の味覚/嗅覚障害を発症する可能性が示唆された。本研究は、PD モデルマウスにおける味覚障害と中枢神経系の器質的障害をはじめて明らかにした

研究であり、今後、PD 患者の味覚/嗅覚障害を含めた非運動障害発症機構の解明を進めていく点において重要な学術的課題となる。また、本研究成果は、新たな味覚/嗅覚障害治療法の開発や、PD の早期診断法の開発にも繋がり、臨床医学においても大きく貢献できる。

以下、それぞれの項目に分けて研究結果を概説する。

4-1. 体重の変化

Sham 群およびロテノン群の両群において、鼻腔内投与終了後 7 日目の体重 (Sham 群: 30.4 ± 0.38 g, ロテノン群: 30.1 ± 0.50 g) は、鼻腔内投与前の体重 (Sham 群: 30.2 ± 0.43 g, ロテノン群: 29.7 ± 0.53 g) と比べて有意差を認めなかった。

4-2. 嗅覚機能の変化

ロテノン投与後の 100% 酪酸に対する滞在率 ($52 \pm 4.1\%$) は、投与前の 100% 酪酸に対する滞在率 ($29 \pm 2.3\%$) に比べて有意に上昇した ($p < 0.01$)。また、ロテノン投与後の滞在率の変化量 ($-1.6 \pm 4.1\%$) は、投与前の変化量 ($18.7 \pm 3.5\%$) に比べて有意に減少した ($p < 0.01$)。

4-3. 苦味感受性の変化

味覚機能テストでは、0.1-0.5 mM の範囲の濃度で平均リック率が低下する逆シグモイド様の曲線を描く濃度-リック率の関係を示した。Vehicle 投与前後で各濃度に対する平均リック率に有意差を認めなかった。一方、ロテノン群では、投与後に濃度-リック率の関係が右方へ移動し、0.1, 0.3, 0.5 および 1.0 mM のキニーネ濃度に対する平均リック率が投与前の平均リック率に比べて有意に上昇した ($p < 0.01$)。また、0.3, 0.5 および 1.0 mM のキニーネ濃度では、ロテノン群の平均リック率の変化量が Sham 群の変化量に比べて有意に高かった ($p < 0.001$)。

4-4. 運動機能の変化

1 週間ロテノン投与マウスでは、ロッドからの落下時間に投与前後で有意差は認められなかった。しかしながら 4 週間ロテノンを投与したマウスでは、投与 2 週目以降 5 週目までのすべての週で、ロッドからの落下時間が減少し、協調運動機能の低下が認められた。

4-5. 免疫組織学的変化

嗅球系球体層の TH 陽性細胞数は、Sham 群 (2265 ± 94 個) と比較してロテノン群 (1198 ± 100 個) で有意に減少した ($p < 0.001$)。また、孤束核吻側部の TH 陽性細胞数 (14.8 ± 1.5 個) は、Sham 群と比べてロテノン群 (5.8 ± 0.8 個) で有意に減少した ($p < 0.001$)。さらに、不全顆粒性島皮質における TH 陽性線維の占有率は、Sham 群 ($3.5 \pm 0.1\%$) と比較して、ロテノン群 ($2.3 \pm 0.2\%$) で有意に減少した ($p < 0.01$)。一方、1 週間ロテノン投与マウスでは、黒質や腹側被蓋野の TH 陽性細胞数に有意な差は認められなかったが、4 週間ロテノン投与マウスでは、黒質および腹側被蓋野の TH 陽性細胞数に有意な減少が認められた。

4-6. 末梢機能の変化

嗅粘膜からの嗅電図記録では、ロテノンおよび Vehicle を投与した両群において、匂い刺激に対する陰性の神経応答が観察された。抗甲状腺薬であるメチマゾールを腹腔内投与したマウスを用いて対照実験を行ったところ、嗅粘膜からの神経応答は完全に消失していた。したがって、1 週間ロテノン投与マウスにおける嗅覚機能は完全には障害されていない可能性が示唆された。一方、鼓索神経からの全神経記録では、ロテノンおよび Vehicle を投与した両群において、味刺激に対する陽性の神経応答が観察された。抗ガン剤として用いられるヘッジホッグ伝達経路の阻害薬 (LDE225) を腹腔内投与したマウスを用いて対照実験を行ったところ、鼓索神経からの神経応答は完全に消失していた。したがって、1 週間ロテノン投与マウスにおける味神経の機能も完全には障害されていない可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Toyoda H, Kawano T, Sato H, Kato T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Cellular Mechanisms Underlying the Rapid Depolarization Caused by Oxygen and Glucose Deprivation in Layer III Pyramidal Cells of the Somatosensory Cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.neures.2020.03.003.	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 Kawasaki Y, Saito M, Won J, Bae JY, Sato H, Toyoda H, Kuramoto E, Kogo M, Tanaka T, Kaneko T, Oh SB, Bae YC, Kang Y	4. 巻 12 (113)
2. 論文標題 Inhibition of GluR Current in Microvilli of Sensory Neurons via Na+-Microdomain Coupling Among GluR, HCN Channel, and Na+/K+ Pump.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in cellular neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2018.00113	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 該当する
1. 著者名 Sato H, Kawano T, Yin DX, Kato T, Toyoda H.	4. 巻 379
2. 論文標題 Nicotinic Activity Depresses Synaptic Potentiation in Layer V Pyramidal Neurons of Mouse Insular Cortex.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 216-218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2018.03.044	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 Nishimura K, Ohta M, Saito M, Morita-Isogai Y, Sato H, Kuramoto E, Yin DX, Maeda Y, Kaneko T, Yamashiro T, Takada K, Oh SB, Toyoda H, Kang Y.	4. 巻 12
2. 論文標題 Electrophysiological and Morphological Properties of and Motoneurons in the Rat Trigeminal Motor Nucleus.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front. Cell. Neurosci.	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2018.00009	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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 佐藤元、尹東旭、豊田博紀、片桐綾乃、加藤隆史
2. 発表標題 パーキンソン病の前駆症状として 味覚障害を発症する実験モデル動物の開発
3. 学会等名 三叉神経領域の感覚 - 運動統合機構研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 下田麻央, 豊田 博紀, 片桐綾乃, 佐藤 元, 秋山茂久, 加藤 隆史
2. 発表標題 口腔機能発達における間歇的低酸素負荷の影響
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤元、尹東旭、豊田博紀、片桐綾乃、加藤隆史
2. 発表標題 モデル動物を用いた 味覚障害発症機構の解明
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hajime Sato, Archana Kumari, Charlotte M. Mistretta, Robert M. Bradley.
2. 発表標題 Complex and multisensory receptive field characteristics of rat trigeminal ganglion (TG) neurons innervating fungiform papillae.
3. 学会等名 Oral Neuroscience 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hajime Sato, Archana Kumari, Charlotte M. Mistretta, Robert M. Bradley.
2. 発表標題 Receptive field size and somatosensory responses of rat lingual nerve/trigeminal ganglion neurons innervating fungiform papillae.
3. 学会等名 ACHEMS XLI (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sato H, Kumari A, Mistretta CM and Bradley RM.
2. 発表標題 Receptive field characteristics of rat trigeminal ganglion neurons.
3. 学会等名 Michigan Sensory Sciences Initiative (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 尹東旭、佐藤元、河野奨、松裏豊、豊田博紀、加藤隆史
2. 発表標題 ロテノン投与マウスにおける味覚と嗅覚の変化
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会、松本歯科大学 (長野県)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 尹東旭、佐藤元、河野奨、松裏豊、豊田博紀、加藤隆史
2. 発表標題 マウス鼻腔内へのロテノン投与における嗅覚と味覚の変化
3. 学会等名 三叉神経研究会、ホテル阪急エキスポパーク (大阪府)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座口腔生理学教室ホームページ
<https://web.dent.osaka-u.ac.jp/phys/>

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	加藤 隆史 (Kato Takafumi) (50367520)	大阪大学・歯学研究科・教授 (14401)	