

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02917

研究課題名(和文) 自然免疫受容体と選択的オートファジーから探る人工関節インプラント感染症の病態

研究課題名(英文) Innate immune receptor and alternative autophagy in pathogenesis of prosthetic joint infection

研究代表者

高木 理彰 (Takagi, Michiaki)

山形大学・医学部・教授

研究者番号：40241707

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：人工関節周囲感染(periprosthetic joint infection: PJI)の病態解明を目的に、オートファジー機構とその関連分子に着目し、PJI組織と関節リウマチ(rheumatoid arthritis: RA)滑膜組織、変形性関節症(osteoarthritis: OA)滑膜組織と比較しながら病理組織学的な解析を行った。PJI組織では、RAのような炎症性滑膜組織同様、OA滑膜組織よりもオートファジー機構が活発に機能し、病態形成に関与していることが明らかとなった。今後はこのオートファジー機能の制御によりPJIに伴う生体組織損傷を低減でき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

PJIの治療は、これまで手術治療と薬剤治療の組み合わせを中心に行われてきた。抗菌薬耐性を含め難治性となると治療に苦慮することが多い。今後、オートファジー機構を利用しながら菌体成分に対する過剰な生体反応を制御することで、従来の治療法にない新境地を開く可能性がある。

研究成果の概要(英文)：To clarify disease mechanism responsible for periprosthetic joint infection (PJI), pathobiological analyses were planned. The study focused on the autophagy mechanism and the comparative analyses were performed with synovial tissues of PJI, rheumatoid arthritis (RA), and osteoarthritis (OA). It became evident that autophagy mechanism was more active in PJI tissues, as well as RA synovial tissues, than those of OA, indicating autophagy mechanism was intensively involved in the pathogenesis of host response in PJI. The data indicated regulation of autophagy mechanism had a potential to reduce the unfavorable local host response leading to tissue destruction by overshooting of host defense.

研究分野：整形外科

キーワード：人工関節周囲感染 オートファジー 炎症性滑膜組織

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 人工関節インプラント感染症(prosthetic joint infection: PJI)は深刻な合併症である。難治性となったPJIでは、患者、家族への精神、肉体、経済・社会的負担は極めて大きい。その克服は大きな課題であった。PJI治療への取り組みは、手術方法の改良や、抗菌剤を用いた薬物療法、またそれらの組み合わせによるものが主体で、生体反応面から病態を解明し、それを治療につなげようという試みはなかった(引用文献1)。

(2) 種々の炎症病態や免疫応答に深く関与する自然免疫受容体のToll様受容体(Toll-like receptor: TLR)とNod様受容体(Nod-like receptor: NLR)が選択的オートファジー(ゼノファジー・リソファジー)(以下 オートファジー)機構と密接に関連する可能性が示唆されていた(引用文献1, 2, 3, 4)。自然免疫受容体とオートファジー機構の関連性から、病原体微生物やその菌体成分、また過剰な生体防御の結果として炎症反応過程で生じる生体構成成分に対するPJIの組織反応は明らかではなかった。

### 2. 研究の目的

(1) PJI組織、関節リウマチ(rheumatoid arthritis: RA)、変形性関節症(osteoarthritis: OA)の滑膜組織を手術検体として採取し、微細形態観察によるオートファジー機構の発現動態を解析し、PJI、RA、OA各組織における微細形態学的特徴を明らかにする。

(2) 上記の微細形態学的特徴の解析とあわせて、PJI、RA、OA各組織におけるオートファジー関連分子の発現動態を免疫組織学、蛋白発現レベルで解析し、PJI組織におけるオートファジー関連分子の発現動態を明らかにし、RA並びにOA滑膜組織との差異を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) オートファジーの超微細形態観察

標本を緩衝グルタルアルデヒド溶液で固定し、四酸化オスミウム溶液で固定、勾配エタノールで脱水し、Epon812で包埋、極薄切片標本作製し、クエン酸鉛と酢酸ウラニルで処理後、透過型電子顕微鏡で観察した(引用文献5)。

#### (2) 病理組織学並びに蛍光二重染色による免疫組織化学的解析

PJI、RA、OA各組織からホルマリン固定・パラフィン包埋標本作成し二重免疫蛍光染色を行った。一次抗体にオートファジー関連分子に対して、anti-WIP1-2、anti-LC3、anti-Atg5、また、細胞の同定にanti-CD68(マクロファージマーカー)、anti-TEM-1(線維芽細胞マーカー)を用い、anti-mouse IgG-Alexa 488とanti-rabbit IgG-Alexa 546を蛍光二次抗体に用いて標識し、陽性細胞を同定、定量的に観察し、細胞局在も評価した(引用文献2,3)。好中球は細胞核形態を指標とした。またKrenn分類を用い、ヘマトキシリン・エオジン染色による病理組織学的評価も併せて行った(引用文献6)。

#### (3) 透過型電子顕微鏡による免疫組織学的超微細形態観察

ホルマリン固定・パラフィン包埋標本作成したPJI、RA、OA各組織に対してABC法を用いて、anti-LC3、anti-Atg5を一次抗体として免疫組織染色を行った。スライドガラス上の切片を標本として、緩衝グルタルアルデヒド溶液で再固定し、四酸化オスミウム溶液でさらに固定後、勾配エタノールで脱水し、Epon812で包埋、極薄切片標本作製し、クエン酸鉛と酢酸ウラニルで処理後、透過型電子顕微鏡で観察した。

#### (4) ウェスタンブロット法による蛋白発現解析

採取検体を小切片としてOCTコンパウンドに包埋後、-80℃に冷凍保存した。クライオスタート法で薄切切片を作成後、組織溶解・核酸蛋白分離液で蛋白分画を採取した。これをSDS pageにて電気泳動法によって展開し、ニトロセルロース膜に転写後、anti-WIP1-2、anti-LC3、anti-Atg5を一次抗体、さらに標識二次抗体を反応させて評価した(引用文献7)。

### 4. 研究成果

#### (1) オートファジーの超微細形態観察:

PJI並びにRAの各組織では、OA滑膜組織と比較して、多数のオートファゴソーム構造が観察された。オートファゴソーム形成を示す細胞の主体はマクロファージで、その細胞質内にオートファゴソーム、オートファゴソーム前駆体、ミエリン構造様物質が観察された(図1)。一方、線維芽細胞ではオートファゴソーム構造を示す細胞はわずかであった。PJI組織では、多数の好中

球浸潤も観察され、細胞質内にオートファゴソームを形成する細胞のほか、ネトーシスの所見を示す好中球が観察された(図2)。明らかなネトーシス現象はRAやOAでは確認されず、これはPJIに特異的な微細形態所見であった。RA滑膜組織では滑膜A細胞にもオートファゴソームやその前駆体構造が観察された。

#### (2) 病理組織学並びに蛍光二重染色による免疫組織化学的解析

病理組織学的に、PJI組織は、好中球浸潤を伴い、マクロファージや線維芽細胞が多く観察される肉芽腫様滑膜組織で、浮腫、出血、血管新生、線維化など、炎症の程度、時期によって、種々の急性期から亜急性期の炎症像が観察された。リンパ球や形質細胞浸潤を認めることもあった。RA滑膜組織は、滑膜表層細胞の重層化を伴い、間質にはマクロファージ、線維芽細胞、血管新生のほか、リンパ球、肥満細胞浸潤が認められた。好中球浸潤は明らかではなかった。OA滑膜組織では、滑膜の著しい重層化は観察されず、単層ないしは2から3層の滑膜表層細胞が認められるものが主体であった。滑膜間質では、マクロファージや線維芽細胞が観察されたが、細胞数はRA滑膜組織と比較して少なく、血管新生も顕著ではなかった。Krenn分類では、RA滑膜はKrenn分類3ないし4、OA滑膜は1ないし2に分類され、炎症の程度はRA滑膜組織がOA滑膜組織と比較して強かった。

免疫組織学的解析では、オートファジー関連分子、WIPI-2、LC3、Atg5がPJI並びにRA滑膜組織に高頻度に観察され、PJI組織では、多核分葉好中球、CD68陽性マクロファージ、RA組織ではCD68陽性マクロファージを主体に局在していた(図3)。OA組織ではWIPI-2、LC3、Atg5の発現は弱く、陽性細胞はCD68陽性マクロファージが主体であった。

#### (3) 透過型電子顕微鏡による免疫組織学的超微細形態観察

PJI並びにRA滑膜組織では、LC3とAtg5に反応性を有する細胞内の胞体構造が確認され、オートファゴソーム、粗面小胞体などの胞体構造に一致する局在を示した。OA滑膜組織では細胞内の胞体構造の免疫反応性は弱かった(図4)。

#### (4) ウェスタンブロット法による蛋白発現解析

組織中の蛋白発現は、PJI組織並びにRA滑膜組織で、OA滑膜組織と比較して、WIPI-2、LC3、Atg5が強発現していた(図5)。

以上(1)から(4)の結果から、PJI組織では、炎症性のRA滑膜組織同様、オートファジー機構が活発に機能し、PJIの病態形成に関与していることが明らかとなった。今後、PJI組織で活発に機能しているオートファジー機構の分子発現について、今回検索した分子以外の検索をすすめる、in-vitroでもオートファジー機構の分子動態の解析を進めることによって、PJI組織における細胞反応を制御する一助となる知見が得られる可能性が示唆された。さらにこの分子動態と自然免疫受容体の分子動態の解析を進めることで、菌体や菌体由来成分、さらに炎症反応過程で生じる生体構成成分に対するオートファジー機構や自然免疫受容体機能の反応性を制御し、感染に関連して生じる過剰な生体反応と、それに伴う組織破壊を抑制する治療法の開発の一助となる可能性も示唆された。

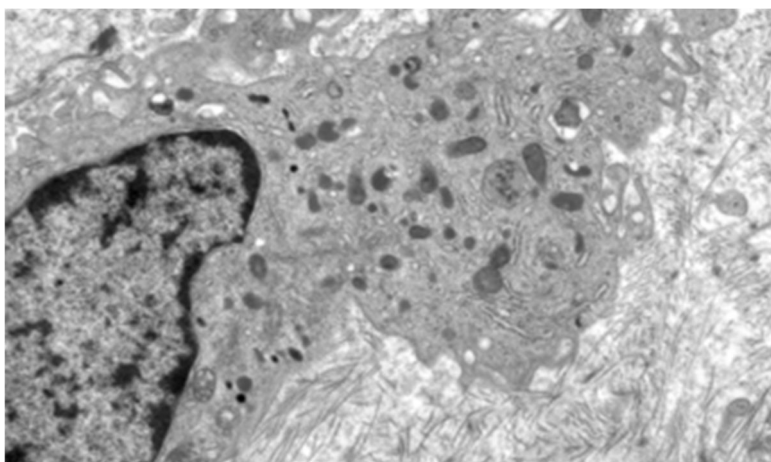


図1：PJI組織中のマクロファージに認められる autophagic vesicle。

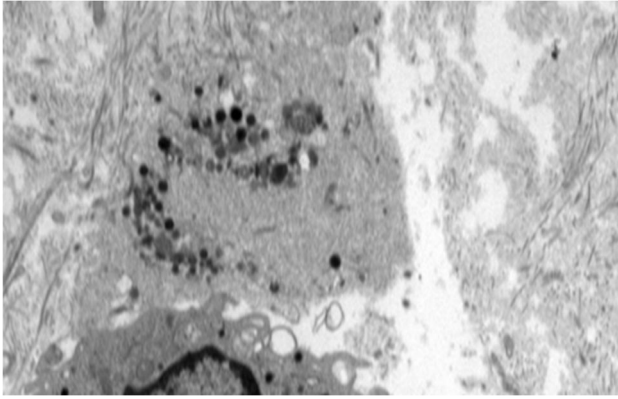
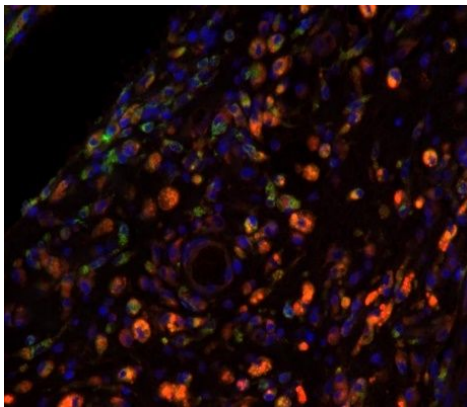
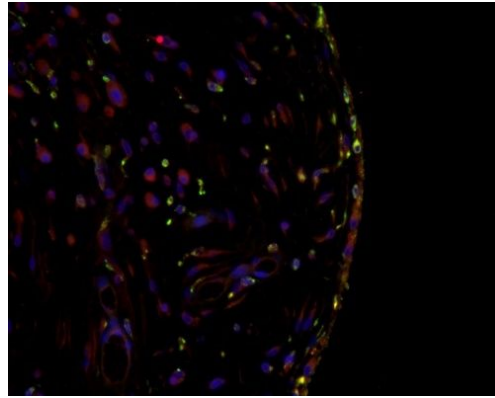


図 2: PJI 組織中で観察される好中球のネトーシス。核クロマチンが溶解し中等度電子密度の微細顆粒状から均質構造物となり、さらに細網を形成している。



A



B

図 3: PJI 組織におけるオートファジー関連分子 WIPI-2 蛍光免疫染色像。CD68 陽性マクロファージとの二重染色陽性像 (A)、TEM-1 陽性マクロファージとの二重染色陽性像 (B)。浸潤した多数のマクロファージで強陽性像を認めた。

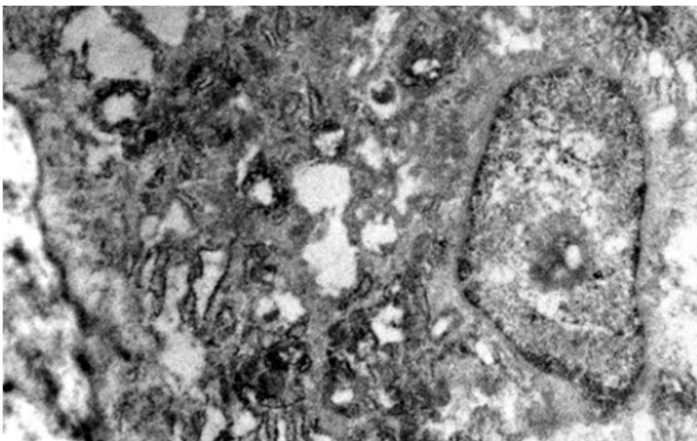


図 4: 抗 Atg5 抗体を用い、戻し電顕法にて検討した PJI 組織パラフィン切片の免疫組織標本の超微細形態観察。マクロファージ様細胞では胞体の膜構造に陽性所見を認めた。

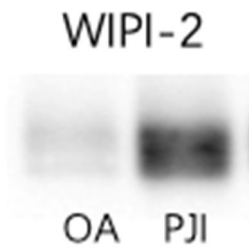


図 5: ウェスタンブロット法による組織中の WIPI-2 の発現。PJI 組織で強い発現を認めた。

#### 引用文献

- 1) Takagi M, et al.: Danger of frustrated sensors: Role of Toll-like receptors and NOD-like receptors in aseptic and septic inflammations around total hip replacements. *J Orthop Translat* 2017; 10: 1-8.
- 2) Takagi M, et al.: Increased expression of TLRs in aseptic loose periprosthetic and septic synovial membranes around total hip implants. *J Rheumatol* 2009; 36:598-608.
- 3) Takakubo Y, Takagi M, et al.: Role of innate immune sensors, TLRs, and NALP3 in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J Long Term Eff Med Implants* 2014; 24: 243-251
- 4) Naganuma Y, Takagi M, et. al.: Lipoteichoic acid modulates inflammatory response in macrophages after phagocytosis of titanium particles through Toll-like receptor 2 cascade and inflammasomes. *J Biomed Mater Res A* 2016; 104: 435-444.
- 5) Takagi M, et al.: A harvesting method of monocyte/macrophages derived from bone marrow and their characteristics. *Jpn J Orthop Assoc* 1990; 64: 89-98.
- 6) Krenn V, et al.: Synovitis score. Discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis *Histopathology* 2006; 49: 358-364.
- 7) Liu X, Takagi M, et al.: A novel monoclonal antibody SMab-2 recognizes endogenous IDH2-R172S of chondrosarcoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2015 ; 459: 636-42.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suzuki Tomoto, Takakubo Yuya, Oki Hiroharu, Liu Xing, Honma Ryusuke, Naganuma Yasushi, Goodman Stuart B., Kaneko Mika K, Kato Yukinari, Takagi Michiaki	4. 巻 37
2. 論文標題 Immunohistochemical Analysis of Inflammatory Rheumatoid Synovial Tissues Using Anti-Human Podoplanin Monoclonal Antibody Panel	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 12 ~ 19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/mab.2017.0047	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 Nemoto Nobuhito, Takeda Yuji, Nara Hidetoshi, Araki Akemi, Gazi Md Yeashin, Takakubo Yuya, Naganuma Yasushi, Takagi Michiaki, Asao Hironobu	4. 巻 32
2. 論文標題 Analysis of intestinal immunity and flora in a collagen-induced mouse arthritis model: differences during arthritis progression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 49 ~ 56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxz058	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 Narita Atsushi, Suzuki Akemi, Nakajima Taku, Takakubo Yuya, Ito Juji, Sasaki Akiko, Takagi Michiaki	4. 巻 4
2. 論文標題 Assessing an alpha-defensin lateral flow device for diagnosing septic arthritis: reporting on a false-negative case and a false-positive case	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology Case Reports	6. 最初と最後の頁 156 ~ 160
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/24725625.2019.1683134	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 Yang Suran, Ohe Rintaro, Aung Naing Ye, Kato Tomoya, Kabasawa Takano, Utsunomiya Aya, Takakubo Yuya, Takagi Michiaki, Yamakawa Mitsunori	4. 巻 31
2. 論文標題 Comparative study of H0-1 expressing synovial lining cells between RA and OA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 133 ~ 140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2019.1704976	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 成田淳, 鈴木朱美, 山本尚生, 高木理彰	4. 巻 43(2)
2. 論文標題 人工膝関節単顆置換術後感染の2例	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JOSKAS	6. 最初と最後の頁 472-473
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 成田淳, 高木理彰	4. 巻 32
2. 論文標題 人工関節周囲感染および化膿性関節炎に対する -ディフェンシン検出キットの有用性	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本骨・関節感染症学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 佐々木幹, 石井政次, 高木理彰, 高窪祐弥	4. 巻 31(13)
2. 論文標題 Aseptic looseningの人工関節再置換術ゆるみのないカップは温存すべきか?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Orthopaedics	6. 最初と最後の頁 11-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 高窪祐弥, 佐々木幹, 高木理彰	4. 巻 45(1)
2. 論文標題 THAにおける人工関節周囲感染 (PJI: periprosthetic infection) の病理診断の現状と課題	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hip Joint	6. 最初と最後の頁 14-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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18件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 10件）

1. 発表者名 Takagi M
2. 発表標題 Innate immunity in osteoarthritis, focus on TLRs and NLRs.
3. 学会等名 The 37th Scandinavian Congress of Rheumatology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takagi M
2. 発表標題 Innate immune sensors and selective autophagy in periprosthetic joint infection.
3. 学会等名 European Orthopaedic Research Society 2018 Annual meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takakubo Y, Oki H, Yang S, Sasaki A, Sasaki K, Naganuma Y, KatoY, Takagi M
2. 発表標題 Distribution of Toll-like receptors expressing immune-cells in rheumatoid synovial tissues of the patients who received CTLA4-Ig agent.
3. 学会等名 ORS 2019 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takakubo Y, Suzuki Y, Oki H, Naganuma Y, Yang S, Sasaki A, Sasaki K, Aso M, Orui H, Takagi M
2. 発表標題 Tumor necrosis factor inhibitors influence the apoptosis of inflammatory cells in rheumatoid synovial tissues.
3. 学会等名 The 62nd Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology
4. 発表年 2018年



1 . 発表者名 Takakubo Y, Ito J, Oki H, Sasaki K, Momma R, Kawaji H, Ishii M, Takagi M
2 . 発表標題 The trend of primary total hip arthroplasties for the patients with osteoarthritis in superaging area in last thirteen years.
3 . 学会等名 The 91st Annual Meeting of the Japanese Orthopaedic Association
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Nemoto N, Takeda Y, Nara H, Araki A, Gazi YM, Takakubo Y, Takagi M, Aso H
2 . 発表標題 Can the intestine save the joints? From the viewpoints of intestinal immunity during arthritic progression in mouse model.
3 . 学会等名 The 91st Annual Meeting of the Japanese Orthopaedic Association
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Takagi M
2 . 発表標題 Basic principles of bone healing. An Immunologic View.
3 . 学会等名 The 2nd International Combined Meeting of Orthopaedic Reserch Societies ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Suzuki T, Lin X, Takubo Y, Oki H, Honma R, Takagi M
2 . 発表標題 Podoplanin is potential biomarker in human fibroblast-like synovocytes activated by lipopolysaccharide.
3 . 学会等名 ORS 2019 Annual Meeting ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Suzuki T, Liu X, Takakubo Y, Oki H, Honma R, Takagi M
2 . 発表標題 Podoplanin is a potential biomarker in lipopolysaccharide-induced inflamed human fibroblast-like synoviocytes.
3 . 学会等名 The 2nd International Combined Meeting of Orthopaedic Reserch Societies ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Takakubo Y, Oki H, Yang S, Sasaki A, Sasaki K, Naganuma Y, KatoY, Takagi M
2 . 発表標題 Distribution of Toll-like receptors expressing immune-cells in rheumatoid synovial tissues of the patients who received CTLA4-Ig agent.
3 . 学会等名 ORS 2019 Annual Meeting ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Takakubo Y, Suzuki Y, Yang S, Oki H, Takagi M
2 . 発表標題 Anti-tumor necrosis factor agents influence the apoptosis of inflammatory synovial cells in the patients with rheumatoid arthritis.
3 . 学会等名 The 2nd International Combined Meeting of Orthopaedic Reserch Societies ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Narita A, Suzuki A, Nakajima, Takakubo Y, Ito J, Yuki I, Oki H, Naganuma Y, Takagi M
2 . 発表標題 Utility of alpha-defesin lateral flow device for periprosthetic joint onfection and septic arthritis.
3 . 学会等名 ORS 2019 Annual Meeting ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Honma R, Maruyama M, Liu X, Oki H, Takakubo Y, Takagi M
2 . 発表標題 Induction of podoplanin in synovial lining cell of lipopolysaccharide-induced rabbit arthritis model.
3 . 学会等名 The 2nd International Combined Meeting of Orthopaedic Reserch Societies ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Xing Liu,Hanqing Huang Yuya Takakubo, Tomohiro Uno, Takeru Akabane, Masahiro Maruyama, Stuart B. Goodman, Michiaki Takagi
2 . 発表標題 Analysis on autophagy-related molecules and structures of the capsular tissues in periprosthetic joint infection.
3 . 学会等名 ORS 2020 Annual Meeting
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 Hanqing Huang, Xing Liu, Yuya Takakubo, Tomohiro Uno, Takeru Akabane, Masahiro Maruyama, Stuart B. Goodman, Michiaki Takagi
2 . 発表標題 Analysis on autophagy-related molecules and structures in the synovium of rheumatoid arthritis and osteoarthritis.
3 . 学会等名 ORS 2020 Annual Meeting
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 Hanqing H, Xing L, Takakubo Y, Uno T, Akabane T, Maruyama M, Goodman SB, Takagi M
2 . 発表標題 Autophagy-related molecules and structures in the synovium of rheumatoid arthritis and osteoarthritis.
3 . 学会等名 The 64th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology
4 . 発表年 2020年

1. 発表者名 The 64th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology
2. 発表標題 Analysis on autophagy-related molecules and structures of the capsular tissues in periprosthetic joint infection.
3. 学会等名 The 64th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木理彰
2. 発表標題 股関節疾患の診断と治療-Review-
3. 学会等名 第91回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 高木理彰, 井樋栄二**, 吉川秀樹**, 津村弘**, 田中栄	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1098
3. 書名 標準整形外科 第14版	

1. 著者名 高木理彰	4. 発行年 2018年
2. 出版社 東日本整形災害外科学会雑誌.	5. 総ページ数 1
3. 書名 巻頭言	

1. 著者名 高木理彰	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Medical Note.	5. 総ページ数 3
3. 書名 避難生活で起こりやすい廃用症候群を防ぐために「災害リハビリテーションとは」	

〔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	佐々木 幹  (Sasaki Kan)  (00444034)	山形大学・医学部・非常勤講師   (11501)	
研究分担者	長沼 靖  (Naganuma Yasushi)  (10463811)	山形大学・医学部・客員研究員   (11501)	
研究分担者	大木 弘治  (Oki Hiroharu)  (20463812)	山形大学・医学部・非常勤講師   (11501)	
研究分担者	伊藤 重治  (Ito Juji)  (50764122)	山形大学・医学部・助教   (11501)	
研究分担者	高窪 祐弥  (Takakubo Yuya)  (80431641)	山形大学・医学部・准教授   (11501)	

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
---------	---------