

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09227

研究課題名(和文)患者由来のエクソソームを用いた卵巣がん新治療の可能性の検討

研究課題名(英文)The development of a novel microRNA replacement therapy for ovarian cancer - a potential of patient derived-exosomes as a carrier.

研究代表者

澤田 健二郎 (Sawada, Kenjiro)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：00452392

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)：進行卵巣癌の予後を改善させる方策として、患者細胞由来の小胞であるエクソソームを核酸医薬のキャリアとして用いた。エクソソームの供給源として、卵巣癌手術の際に摘出する大網より、線維芽細胞を分離初代培養し、その細胞上清よりエクソソームを抽出した。それに腫瘍抑制miRNAであるmiR-199a-3pを導入し、治療用エクソソームを作成、治療効果を検証した。卵巣癌細胞株に添加したところ、miRNAの良好な取り込みがみられ、標的がん遺伝子c-Metの発現が抑制され、癌細胞の浸潤能、増殖能が抑制された。卵巣癌モデルマウスに投与したところ、腫瘍に選択性高く取り込まれ、卵巣癌細胞の腹膜播種を有意に抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣癌患者大網由来のエクソソームを核酸医薬のキャリアとして用いた場合、卵巣がん細胞への選択性と効率の高い核酸の取り込みが期待でき、治療効果が期待できることを証明した。今後の新規の核酸治療への応用の可能性を提示した。腹膜播種は腹膜癌や婦人科癌に留まらず、胃癌や大腸癌などの消化器癌においても、極めて難治で、治療はほぼ不可能である。今回の研究成果は、消化器癌などにおける腹膜播種形成にも応用できると考えており、新規の癌治療として臨床応用できる可能性を有している。

研究成果の概要(英文)：MicroRNAs (miRNAs) affect key features of cancer cells. Exosomes are stable in body fluid and therefore can serve as a promising candidate for miRNA carrier. In ovarian cancer treatment, omentum should be taken at surgery and normal fibroblasts can be collected from omentum. The aim of this study is to pursue the possibility of fibroblast derived-exosomes as a carrier for miRNA replacement therapy. At surgery, omentum was collected and fibroblasts were primary cultured. Thereafter, exosomes were collected from culture media. Synthesized miR-199a-3p was incorporated into exosomes by electroporation. The treatment of miR-199a-3p-loaded exosomes (M199-exosomes) was assessed. The treatment of M199-exosomes drastically increased miR-199a-3p expression followed by c-Met down-regulation and significantly inhibited the proliferation and invasion of ovarian cancer cells in vitro and in vivo. As a conclusion, exosomes derived from patients' fibroblasts can serve as superior carrier of miRNA.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：卵巣癌 マイクロRNA エクソソーム バイオマーカー DDS 腹膜播種

1. 研究開始当初の背景

卵巣がんは我が国において年々増加している。厚生労働省の 2011 年の統計では年間 9314 名が罹患し、うち半数以上の 4717 名が現病死している。進行卵巣がんはいまだに“致命的な”疾患である。卵巣がんにおけるもっとも頻度の高い転移・再発形式は腹膜播種であり、この病態が進行すると癌性腹膜炎から腸閉塞や水腎症、腹水貯留を併発し、患者の全身状態は急速に悪化する。したがって、癌性腹膜炎の治療成績は卵巣がん患者の予後を大きく左右する。しかしながら、腹膜播種として再発した場合、その治療には極めて難渋し、最新の抗癌剤治療や放射線治療が奏効しない。予後を改善するべく数々の新規分子標的治療薬が臨床に導入されているが、まだまだ生存期間を本質的に改善するような成果は得られていない。

その問題を解決するためには、従来の治療に抵抗性を有する播種病変の対する新規分子標的治療の開発が必要である。あまたの先行研究にも関わらず、いまだ卵巣がんの予後を改善するような薬剤の開発にはいたっていない。我々もこれまでいくつかのがん特異的分子に対する siRNA、miRNA は卵巣がんの腹膜播種を抑制し、特に miR-199a, miR-92a, Met siRNA などが卵巣がんの腹膜播種を抑える有望な治療選択肢であることを報告してきた (Cancer Res. 2007; 67, 1670-9. Am J Pathol. 182(5):1876-89;2013. Oncotarget. 2015 May 10;6(13):11342-56.)。しかしながら、これらの核酸医薬を患者に投与しても、まずは体液中に豊富に存在する RNAase に分解されてしまう。核酸に修飾を加え分解されにくい構造にしても、網内系に取り込まれてしまい、病巣まで効果的に届けることができなかった。ところが、2017 年に画期的な報告が *Nature* 誌になされた。線維芽細胞株のエクソソームに KRAS の siRNA を封入したエクソソームを作成し、すい臓がんモデルマウスへ投与したところ、劇的な治療効果を認めた (Kamerkar, et al. *Nature* 2017)。彼らはエクソソーム表面には CD47 が発現しており、“Don't eat me” シグナルが伝達されるため、免疫系細胞からの貪食から逃れ血中に安定して存在していることを見出した。また、がん細胞が正常細胞に比べて、細胞外液を取り込むマクロピノサイトーシス機能が亢進していることに報告し、ゆえに腹腔内投与することにより、治療用エクソソームを効果的かつがん細胞選択的に届けることを報告した。すなわち、卵巣がんの再発病変の主体が腹腔内にがん細胞が飛び散った腹膜播種であることを考慮すると、エクソソームが核酸試薬の Drug Delivery System (DDS) の Carrier として最適であることを意味する。ただし、彼らはエクソソームを線維芽細胞株から抽出しているが、それでは他人の細胞由来のエクソソームを投与することになり、患者に投与した際にその免疫から回避できない。一方、卵巣がんの臨床を考えると、初回手術の際に転移があろうとなかろうと大網を摘出する。この大網からは線維芽細胞が効率的に初代培養されることが報告されている (Kenny H, et al. *Int J Cancer*. 2007)。つまり、患者から初回手術の際に採取した大網から線維芽細胞を初代培養し、それよりエクソソームを採取し、それに卵巣がんの腹膜播種を抑制する miRNA を電気穿孔法で封入し、“治療用エクソソーム”として保存しておく。そして、将来的に患者が腹膜播種再発し、従来の抗がん剤が奏功しなくなった場合には、その“治療用エクソソーム”を腹腔内投与する。このような新治療のスキームを考案した。本研究申請では、それを実験動物で再現し、将来的な臨床試験につなげるための基礎データを創出したい。

2. 研究の目的

この研究の目的は患者由来のエクソソームを DDS の Carrier として用い、将来的な臨床応用の可能性を検討することである。そもそも大網摘出術は卵巣がんの治療において必須であり、大網摘出に伴う患者の実質的な侵襲は皆無である。その大網から線維芽細胞を初代培養し、エクソソームを抽出する。患者由来のエクソソームは患者の免疫細胞からの捕捉を逃れることができるため、腹腔内投与すると長く腹腔内にとどまることができる。またがん細胞は正常細胞に比べて細胞外液をより多く細胞内に取り込むため、腹腔内投与によりがん細胞に優位にエクソソームを取り込ませることができる。つまり、エクソソームの核酸医薬の DDS の Carrier としての可能性は極めて有望である。しかしながら、“治療用エクソソーム”はまだ世界中のどこでも実現していない。何とか我々はその先鞭をつけたいと考えている。本研究がうまくいけば、日本医療研究開発機構の「革新的がん医療実用化研究事業」に公募し、何とか臨床研究の可能性への道筋をつけてみたい。

腹膜播種は腹膜癌や婦人科癌に留まらず、胃癌や大腸癌などの消化器癌においても、極めて難治で、治癒はほぼ不可能である。今回の研究でその制御につながる基礎的な研究成果を創出することができれば、消化器癌などにおける腹膜播種形成にも応用できると考えている。従って、本研究が成功した場合、婦人科がんにも留まらない、癌治療における革新的な成果になる可能性を有している。

3. 研究の方法

以下の研究成果に記載した通り下記の研究を行った。

- (1) 線維芽細胞の初代培養
- (2) 初代培養線維芽細胞よりのエクソソームの抽出
- (3) エクソソームへの miR-199a-3p の封入
- (4) 作成した“合成エクソソーム”を用いた卵巣がん細胞に対する In vitro 実験
- (5) 卵巣がん腹膜播種モデルマウスに対する“治療用エクソソーム”の治療効果の検討

4. 研究成果

(1) 線維芽細胞の初代培養

倫理委員会および患者の文書による同意を得た上で、手術時に採取した大網を用いて、はさみで細切後、コラゲナーゼ処理で腹膜中皮細胞を取り除いたのちに、トリプシン処方を行いことにより、線維芽細胞を抽出する実験系を確立した。

図1に実際我々が初代培養した線維芽細胞の免疫染色を示す。形態は紡錘状であり、Prolyl-4-hydroxylase 強陽性である。Passage はおおよそ 4 - 5 回まで可能であった。

(2) 初代培養線維芽細胞よりのエクソソームの抽出

超遠心法を行い、 1×10^8 個の線維芽細胞より、おおよそ 50 ~ 100 μ g

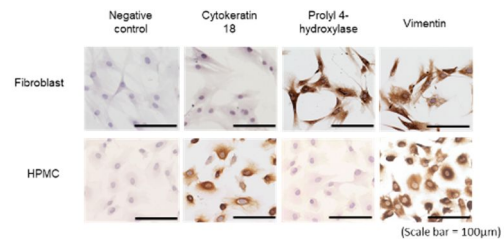


図1 大網より初代培養した線維芽細胞の免疫組織染色写真。線維芽細胞はCytokeratin が陰性であり、prolyl 4-hydroxylase, vimentin が陽性であった。

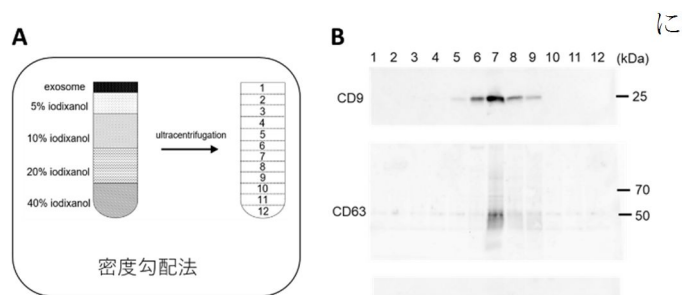


図2 大網由来線維芽細胞よりのエクソソームの抽出。A. 培養上清の超遠心法で抽出したエクソソームをショ糖密度勾配法で分離した。B. Western blot. 分離した分画成分を SDS-PAGE で電気泳動し、エクソソームの表面マーカーである CD9, CD63, CD81 抗体で Western Blot を行った。

のエクソソームが回収できた。タンパク質の混入を極力排除し、より純度の高いエクソソームを回収するためにショ糖密度勾配法を用いて、**図2**に示すように Fraction 6-9 にエクソソームが存在することを確認し、これを回収した。

(3) エクソソームへの miR-199a-3p の封入

我々は過去の報告により、miR-199a-3p の卵巣がん細胞への導入は腹膜播種を著明に抑制することを報告している。蛍光色素 FAM の Tag をつけた miR-199a-3p を作成し、1 μ g の Small RNA を 1×10^9 個のエクソソームに Gene Pulser Xcell PC システム (Biorad) を用いて封入し、“治療用エクソソーム”を作成した。

(4) 作成した“合成エクソソーム”を用いた卵巣がん細胞に対する In vitro 実験

“治療用エクソソーム”を蛍光色素 CellVue Claret (Sigma) で赤色に蛍光標識したうえで卵巣癌細胞株に添加し、その取り込みを共焦点蛍光顕微鏡で確認した (**図3**)。さらに miR-199a-3p が選択的に細胞内に取り込ま

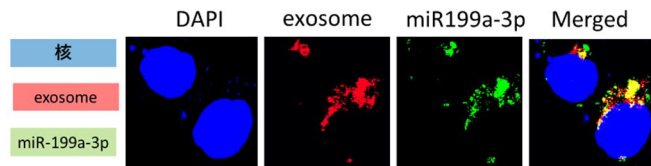


図3 共焦点蛍光顕微鏡 卵巣癌細胞株SKOV3ip1にFAM (緑色) で標識した miR-199a-3p を封入したエクソソーム (赤色) を添加し、共焦点顕微鏡でエクソソームおよびmiRNAの取り込みを確認した。

れているかを miRNA-RT-PCR 法で確認した。**図4**に示したように“治療用エクソソーム”により卵巣癌細胞が miR-199a-3p を取り込んでいた (CaOV3; 8592-fold, SKOV3ip1; 67188-fold, OVCAR3; 2280-fold)。続いて、miR-199a-3p が癌遺伝子 Met の発現を抑制することに着目し、“治療用エクソソーム”添加により卵巣癌細胞における c-Met の発現と下流の ERK および AKT のリン酸化に与える影響を Western Blot で検証し、miR-199a-3p が卵巣癌細胞株 CaOV3 と SKOV3ip1 において、HGF 投与による c-Met のリン酸化および下流の ERK および AKT のリン酸化を抑制することを証明した。さらに In vitro proliferation assay および In vitro invasion assay を行い、この“治療用エクソソーム”が卵巣癌細胞株の増殖能および浸潤能を抑制することを証明した。

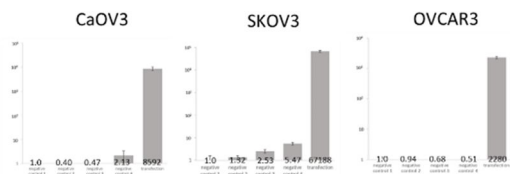
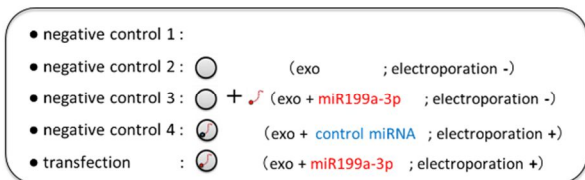


図4 miRNA RT-PCR エクソソームに封入された miR-199a-3p は効率的に卵巣癌細胞に取り込まれる

(5) 卵巣がん腹膜播種モデルマウスに対する“治療用エクソソーム”の治療効果の検討

最後に“治療用エクソソーム”の効果を生体内実験を検討した。SKOV3 に Luciferase 遺伝子を導入した細胞株 SKOV3-Luci を作成し、 2×10^6 個の SKOV3-Luci 細胞を Balb-c nu/nu マウスに腹腔内移植し、腹膜播種の形成を IVIS Imaging System (Xenogen) で確認した。“治療用エクソソーム”を蛍光色素 DiR (Life Technology) で標識し、ルシフェラーゼが発光している腹腔内腫瘍に

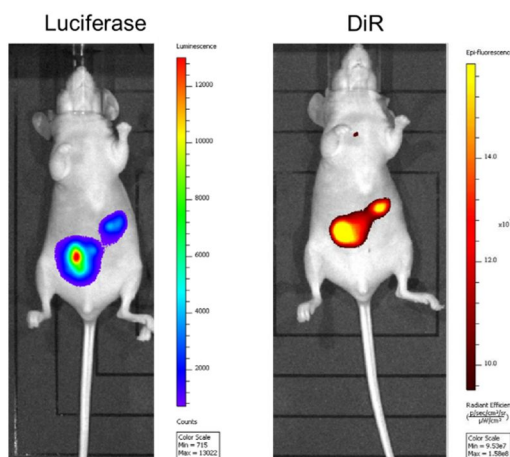


図5 “治療用エクソソームは腫瘍選択的に取り込まれる。SKOV3-Luci 腫瘍をヌードマウスに腹腔内移植し、腫瘍を形成した時点で蛍光色素 DiR で標識したエクソソームを腹腔内投与した。腹腔内腫瘍をルシフェリンで発光させている。

選択的にエクソソームが取り込まれていた (図5)。続いて、SKOV-3-Luci 細胞を腹腔内に移植後 14 日目より、“治療用エクソソーム” 投与を 1 日おきに投与し、腹膜播種形成における治療効果を検討した。図6 に示したように miR-199a-3p を封入した“治療用エクソソーム” は腹膜播種形成を有意に抑制した。

以上、卵巣がん患者大網由来のエクソソームを核酸試薬の DDS をした用いた場合、卵巣がん細胞への選択性と効率の高い核酸の取り込みが期待でき、治療効果が期待できることを証明した。今後の新規の核酸治療への応用の可能性を提示した。

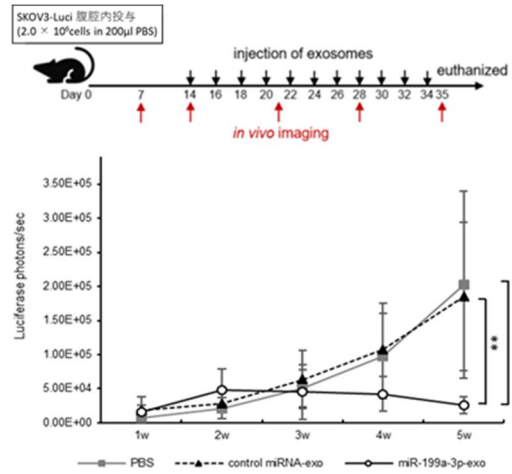


図6 miR-199a-3p を封入したエクソソーム(miR-199a-3p-exo)は卵巣癌腹膜播種を抑制する。Balb-c nu/nu マウスに 2×10^6 個の SKOV3-Luci 細胞を腹腔内移植し、腫瘍の形成を IVIS でモニターした。移植後14日目より、miR-199a-3p-exoを1日おきに投与し、治療効果を検討した。コントロールとして、PBS および control-miRNA をエクソソームに封入したもの(control miRNA-exo)を用いた。*: $P < 0.01$ 。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kobayashi Masaki, Sawada Kenjiro, Miyamoto Mayuko, Shimizu Aasa, Yamamoto Misa, Kinose Yasuto, Nakamura Koji, Kawano Mahiru, Kodama Michiko, Hashimoto Kae, Kimura Tadashi	4. 巻 527
2. 論文標題 Exploring the potential of engineered exosomes as delivery systems for tumor-suppressor microRNA replacement therapy in ovarian cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 153 ~ 161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.04.076	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 Kobayashi Masaki, Sawada Kenjiro, Nakamura Koji, Yoshimura Akihiko, Miyamoto Mayuko, Shimizu Aasa, Ishida Kyoso, Nakatsuka Erika, Kodama Michiko, Hashimoto Kae, Mabuchi Seiji, Kimura Tadashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Exosomal miR-1290 is a potential biomarker of high-grade serous ovarian carcinoma and can discriminate patients from those with malignancies of other histological types	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Ovarian Research	6. 最初と最後の頁 81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13048-018-0458-0	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 Yoshimura Akihiko, Sawada Kenjiro, Nakamura Koji, Kinose Yasuto, Nakatsuka Erika, Kobayashi Masaki, Miyamoto Mayuko, Ishida Kyoso, Matsumoto Yuri, Kodama Michiko, Hashimoto Kae, Mabuchi Seiji, Kimura Tadashi	4. 巻 18
2. 論文標題 Exosomal miR-99a-5p is elevated in sera of ovarian cancer patients and promotes cancer cell invasion by increasing fibronectin and vitronectin expression in neighboring peritoneal mesothelial cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 1065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-018-4974-5	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 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Yoshimura, A. Miyamoto, M. Nakatsuka, E. Kodama, M. Hashimoto, K. Mabuchi, S. Kimura, T.
2. 発表標題 Elevated level of serum miR-1290 is correlated with high-grade serous ovarian epithelial ovarian cancer and might be a potential biomarker
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Yoshimura, A. Miyamoto, M. Nakamura, K. Nakatsuka, E. Kodama, M. Hashimoto, K. Mabuchi, S. Kimura, T.
2. 発表標題 Up-regulation of serum mir-1290 is correlated with high grade serous epithelial ovarian cancer and can be a new potential biomarker
3. 学会等名 17th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society (IGCS 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Shimizu, A. Miyamoto, M. Ishida, K. Yoshimura, A. Nakatsuka, E. Nakamura, K. Kodama, M. Hashimoto, K. Mabuchi, S. Kimura, T.
2. 発表標題 Elevated level of serum miR1290 is correlated with high grade serous epithelial ovarian cancer and can be a potential biomarker
3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 澤田健二郎. 香林正樹. 中村幸司. 吉村明彦. 木村 正.
2. 発表標題 卵巣癌が分泌するエクソソームは腹膜中皮細胞に働きかけ癌浸潤を促進し、また新規の癌のバイオマーカーとしても有望である
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 香林正樹. 澤田健二郎. 宮本真由子. 吉村明彦. 中塚えりか. 中村幸司. 馬淵誠士. 木村 正.
2. 発表標題 血中miR-1290が高異型度漿液性卵巣癌の新たなバイオマーカーとなりうる
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Shimizu, A. Miyamoto, M. Nakamura, E. Kawano, M. Kodama, M. Hashimoto, K. Mabuchi, S. Kimura, T.
2. 発表標題 The Development of a novel microRNA replacement therapy for ovarian cancer - a potential of patient derived-exosomes as a carrier
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sawada, K.
2. 発表標題 The role of cancer-derived exosomes during ovarian cancer progression
3. 学会等名 Mackey Memorial Hospital International Conference on Women 's Cancer (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shimizu, A. Sawada, K. Kobayashi, M. Miyamoto, M. Ishida, K. Kawano, M. Hashimoto, K. Mabuchi, S. Kimura, T.
2. 発表標題 CD47, a "don't eat me" signal, expression in ovarian cancer cells were regulated by circulating exosomes and targeting exosomes enhanced the phagocytosis
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Shimizu, A. Miyamoto, M. Nakatsuka, E. Kawano, M. Matsumoto, Y. Kodama, M. Hashimoto, K. Mabuchi, S. Kimura, T.
2 . 発表標題 Novel microRNA replacement therapy with patient derived-exosome as a carrier
3 . 学会等名 第71回日本産科婦人科学会
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Shimizu, A. Sawada, K. Kobayashi, M. Miyamoto, M. Kawano, M. Kodama, M. Hashimoto, K. Kimura, T.
2 . 発表標題 Exosomal CD47 Derived from Ovarian Cancer Cells Promotes Cancer Immune Evasion by Recycling and Its Inhibition Has a Therapeutic Potential
3 . 学会等名 第61回日本婦人科腫瘍学会
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Shimizu, A. Miyamoto, M. Nakatsuka, E. Kawano, M. Matsumoto, Y. Kodama, M. Hashimoto, K. Mabuchi, S. Kimura, T.
2 . 発表標題 The Development of a Novel MicroRNA Replacement Therapy for Ovarian Cancer with Patient Derived-exosomes as a Carrier
3 . 学会等名 第61回日本婦人科腫瘍学会
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Shimizu, A. Miyamoto, M. Nakatsuka, E. Kodama, M. Hashimoto, K. Kimura, T.
2 . 発表標題 Development of novel microRNA replacement therapy with patient derived-exosome as a carrier
3 . 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 Shimizu, A. Sawada, K. Kobayashi, M. Miyamoto, M. Kimura, T.
2. 発表標題 Inhibition of exosomal CD47 derived from ovarian cancer cells has a therapeutic potential to cancer immune evasion
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shimizu, A. Sawada, K. Kobayashi, M. Miyamoto, M. Kinose, Y. Kodama, M. Hashimoto, K. Kimura, T.
2. 発表標題 Potential of patient-derived exosomes as a carrier of siRNA delivery for the treatment of ovarian cancer peritoneal dissemination
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Miyamoto, M. Shimizu, A. Yamamoto, M. Kawano, M. Kodama, M. Hashimoto, K. Kimura, T.
2. 発表標題 The potential of engineered exosomes as a carrier of tumor-suppressor microRNA replacement therapy for ovarian cancer
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shimizu, A. Sawada, K. Kobayashi, M. Yamamoto, M. Yagi, T. Kimura, T.
2. 発表標題 Patient-derived Exosomes Can Work as a Carrier of siRNA Delivery for the Treatment of Ovarian Cancer Peritoneal Dissemination.
3. 学会等名 第62回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kobayashi, M. Sawada, K. Miyamoto, M. Shimizu, A. Yamamoto, M. Kawano, M. Kodama, M. Hashimoto, K. Kimura, T.
2. 発表標題 Excellent Usefulness of Engineered Exosomes as a Carrier for Tumor-suppressor microRNA Replacement Therapy of Ovarian Cancer
3. 学会等名 第62回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2021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	小玉 美智子 (Kodama Michiko) (70791391)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	
研究分担者	木村 正 (Kimura Tadashi) (90240845)	大阪大学・医学系研究科・教授 (14401)	
研究分担者	橋本 香映 (Hashimoto Kae) (90612078)	大阪大学・医学部付属病院・特任准教授(常勤) (14401)	
研究分担者	馬淵 誠士 (Mabuchi Seiji) (00452441)	奈良県立医科大学・医学部・講師 (24601)	

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	香林 正樹 (Kobayashi Masaki) (30880786)		
研究協力者	清水 亜麻 (Shimizu Aasa) (10910268)		

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