

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 6 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09370

研究課題名(和文) 内耳障害の病態形成におけるネクロプトーシスの役割の解明と治療への応用

研究課題名(英文) Investigation of the role of necroptosis in the inner ear diseases and its application for treatments

研究代表者

岩崎 真一 (Iwasaki, Shinichi)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：10359606

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)：細胞死は、分子によって制御された細胞死であるアポトーシスと、それ以外の受動的な細胞死であるネクローシスとにこれまで分類されてきたが、近年の研究により、ネクローシスの中にも、分子によって制御されるネクロプトーシスが存在することが明らかにされた。本研究では、マウスより摘出した、蝸牛の器官培養を用いて、耳毒性物質ゲンタマイシン(GM)によって誘導される有毛細胞障害について、アポトーシス、ネクローシス、ネクロプトーシスの関与について解析を行った。GMによる内耳障害には、アポトーシス、ネクローシス、ネクロプトーシスのいずれもが関与し、それぞれの阻害薬で内耳障害の軽減がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感音性難聴や末梢前庭障害等の内耳疾患は頻度の高い身体障害であるにもかかわらず、その根本的な治療は未だ確立されていない。薬剤性内耳障害や騒音性難聴、老人性難聴においては、それらの発症に有毛細胞内の酸化ストレスに起因するアポトーシスが深く関与することが示されている。しかしながら、これらの障害に対する抗酸化剤やアポトーシス阻害薬の効果は部分的であり、非アポトーシス細胞死の関与が予想される。本研究では、耳毒性薬物による内耳障害には、アポトーシスのみならず、ネクローシスやネクロプトーシスも関与することを明らかにした。この研究成果は、内耳障害に対する新規治療の開発に貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：Historically, two forms of cell death have been recognized: necrosis as 'accidental' and apoptosis as 'programmed'. Recently, genetically programmed form of necrosis termed 'necroptosis' has been reported. We investigated the involvement of necroptosis and apoptosis in gentamicin (GM) ototoxicity to identify potential therapeutic targets. We examined organotypic cultures of P3 ICR mice cochlear explants. We showed necrotic and apoptotic cells proportion and the levels of typical antibody in hair cells decreased after treating with different concentration of ZVAD (caspase inhibitor) or Nec-1(necrosis inhibitor). Our findings suggest that GM-induced ototoxicity is caused by combination of necrosis, necroptosis, and apoptosis.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：内耳障害 アポトーシス ネクローシス ネクロプトーシス アミノ配糖体 有毛細胞

1. 研究開始当初の背景

感音性難聴や末梢前庭障害等の内耳疾患は頻度の高い身体障害であるにもかかわらず、その根本的な治療は未だ確立されていない。薬剤性内耳障害や騒音性難聴、老人性難聴においては、それらの発症に有毛細胞内の酸化ストレスに起因するアポトーシスが深く関与することが示されている(1)。しかしながら、これらの障害に対する抗酸化剤やアポトーシス阻害薬の効果は部分的であり、非アポトーシス細胞死の関与が予想される(2, 3)。

これまで細胞死は、カスパーゼをはじめとする分子によって制御されるアポトーシスと、それ以外の受動的な細胞死であるネクロトーシスに分類されてきた。しかしながら、近年これまでネクロトーシスとひとくくりにされてきた受動的な細胞死の中にも、分子によって制御されるネクロプトトーシスが存在することが明らかにされた(4)。

ネクロプトトーシスは、RIPK (receptor-interacting protein kinase)1、RIPK3、MLKL (mixed lineage kinase domain-like)と呼ばれる分子の活性化によって誘導され、核の膨化、細胞膜の崩壊など従来ネクロトーシスの特徴とされてきた変化を伴う細胞死を引き起こす。近年、動物モデルを用いた研究により、急性膵炎や薬物性肝障害、脳血管障害、神経変性疾患など多くの疾患とネクロプトトーシスの関連について報告がなされている(5)。しかしながら、様々な内耳障害においてネクロプトトーシスの果たす役割について、詳細に解析した研究は、これまでになされていない。

2. 研究の目的

音響外傷、薬剤性内耳障害、加齢性難聴などの様々な内耳障害で有毛細胞のアポトーシスが認められることに関しては、これまでに多数の報告がなされており、これらの、ネクロプトトーシスについての詳細な解析がなされた報告はこれまでにない。本研究では、様々な内耳障害においてアポトーシスとネクロプトトーシスの果たす役割について、明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

生後3日目のICRマウスより側頭骨を摘出し、蝸牛上皮の培養を行った。蝸牛障害のモデルとして、耳毒性アミノ配糖体であるゲンタマイシン(GM) 0.3~1 mMのGMを投与し、6~12時間培養し、Propidium iodide (PI)による核染色とmyosin 7Aによる有毛細胞染色、DAPIによる核染色を行い、有毛細胞障害について検討を行った。また、アポトーシスのマーカーとして、caspase-8 (CC8)、caspase-9 (CC9)、ネクロプトトーシスのマーカーとして、phospho-AMPKa (pAMPKa)、RIP1、RIP3、phospho-MLKL (pMLKL)に対する免疫染色を行った。アポトーシスの阻害剤としてZVADを、ネクロプトトーシスの阻害剤としてNec-1を使用した。

4. 研究成果

(1) GMによる有毛細胞死の解析

0.3 mM, 0.6 mM, 1.0 mMのGM存在下に蝸牛上皮の器官培養を行い、培養6時間後、12時間後、24時間後に、内有毛細胞数、外有毛細胞数のカウントを行った。内有毛細胞、外有毛細胞ともにGMの濃度の増加とともに細胞数の減少を認めた。また、培養12時間では、細胞数の減少はわずかであったが、24時間後には統計学的に有意な減少を認めた(図1)。

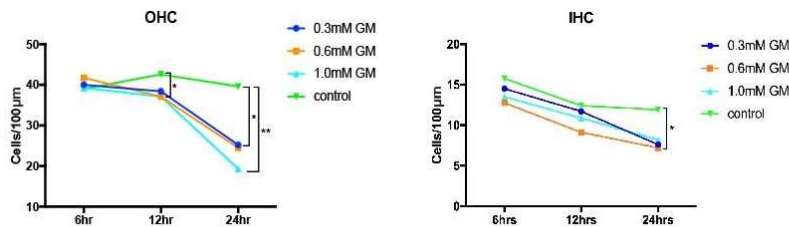


図1. GM投与による有毛細胞数の変化

(2) GM投与によるアポトーシス、ネクローシスの解析

次にPIによる核染色を行い、GM投与により核の濃縮がみられるものをアポトーシス、核の膨張がみられるものをネクローシスと判定し、それぞれについて、有毛細胞数のカウントを行った。内有毛細胞、外有毛細胞とも、GM 0.3 mM, 0.6 mM投与においては、培養12時間後には、アポトーシス、ネクローシスの双方がみられたが、培養24時間後になると、アポトーシスが主に観察された。GM 1 mMでは、培養12時間後、24時間後ともにアポトーシスが主に観察された(図2)。

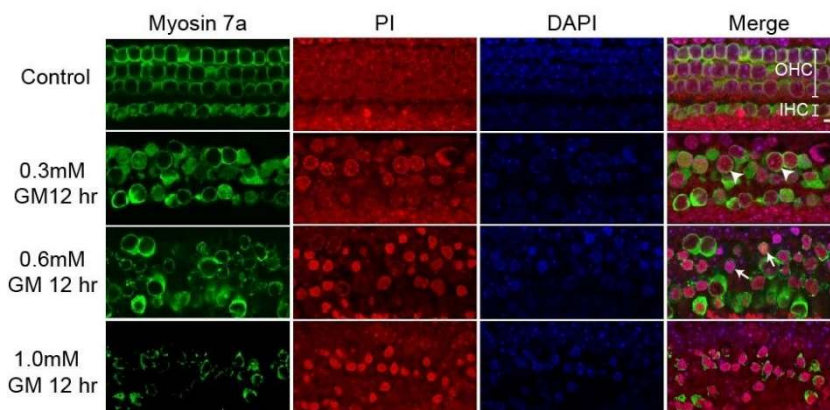
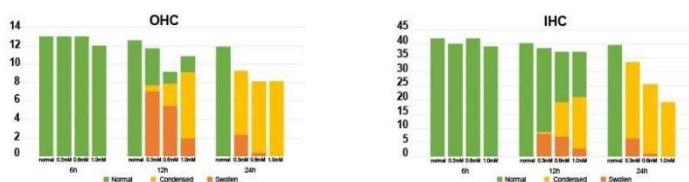


図2. GM投与によるアポトーシスとネクローシスの変化



(3) 免疫染色によるアポトーシスとネクロプトーシスの確認

GM 投与により、アポトーシスとネクロプトーシスが実際に生じていることを確認する目的で、0.3 ~0.6 mM の GM 投与後に、アポトーシスのマーカーとして、caspase-8 (CC8), caspase-9 (CC9)、ネクロプトーシスのマーカーとして、phospho-AMPKa (pAMPKa)、RIP1、RIP3、phospho-MLKL (pMLKL)に対する免疫染色を行った。GM 投与後には、CC8, CC9, RIP1, RIP3, AMPK の発現が認められ、アポトーシスおよびネクロトーシスが生じていることが確認された (図 3)。

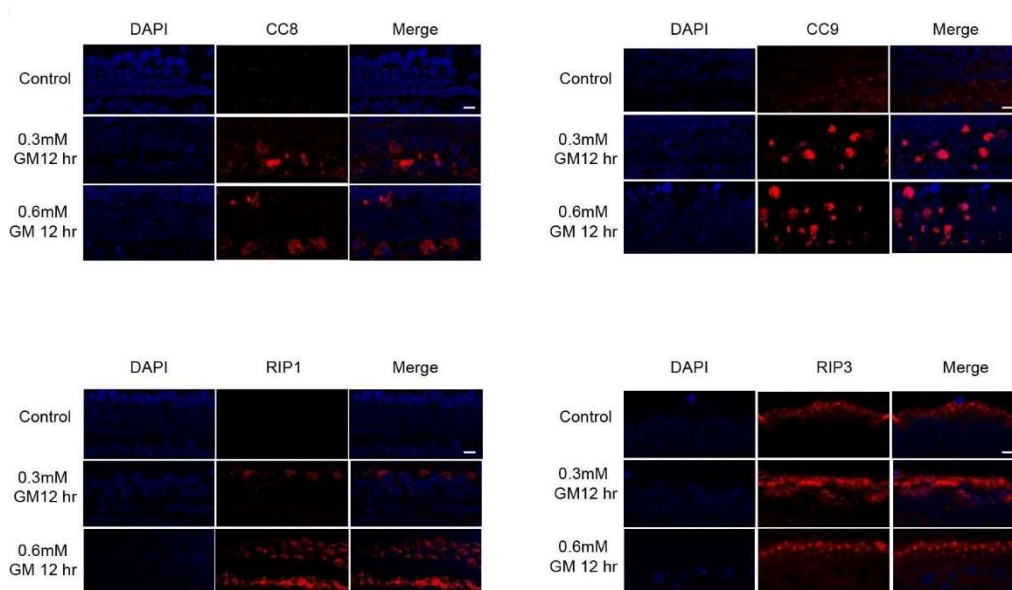


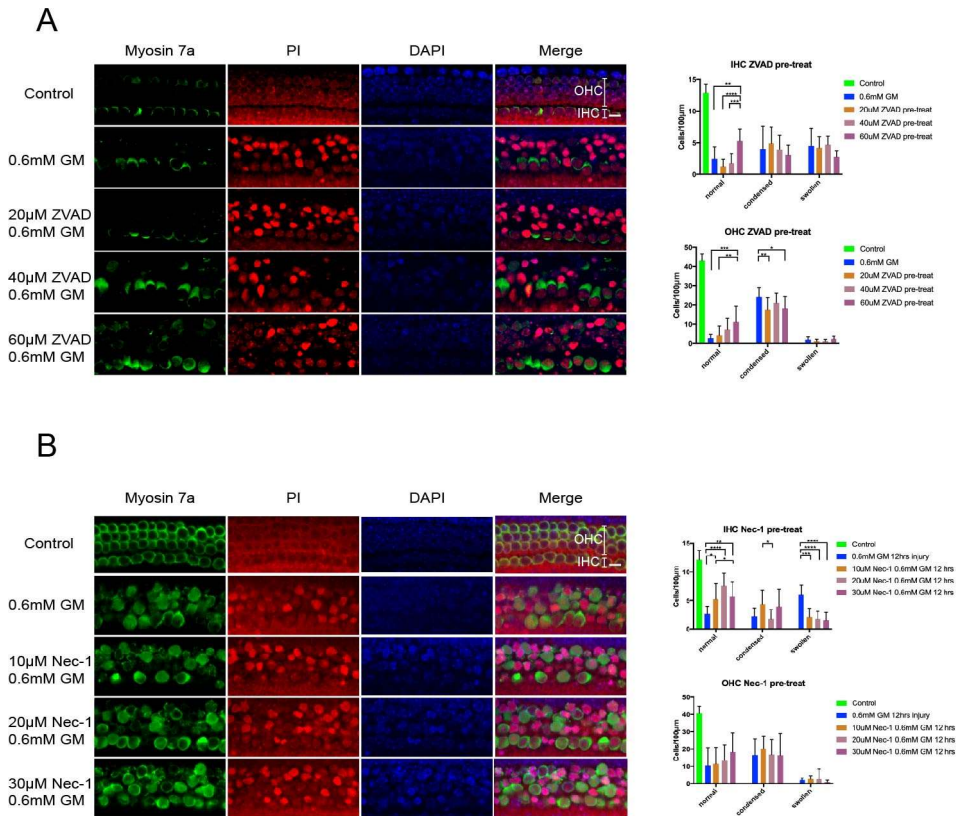
図 3. GM 投与によるアポトーシス(CC8, CC9)とネクロプトーシス(RIP1, RIP3)の確認

(4) GM による有毛細胞障害に対するアポトーシス阻害薬、ネクロプトーシス阻害薬の保護効果

GM による有毛細胞障害に対するアポトーシス阻害薬、ネクロプトーシス阻害薬の保護効果の有無について検討する目的で、アポトーシス阻害薬である ZVAD (20 μ M, 60 μ M)、ネクロプトーシス阻害薬 Nec-1 (10~30 μ M) 存在下で、GM 投与を行い、その効果について検討を行った。

ZVAD, Nec-1 とともに統計学的に有意な細胞保護効果を認めた (図 4)。

以上の結果より、GM による内耳障害には、アポトーシス、ネクロプトーシス、それ以外のネクロトーシスのいずれもが関与し、アポトーシス、ネクロプトーシスの阻害薬を投与することによって、内耳障害を部分的に防ぐ効果があることが明らかになった。ネクロプトーシス阻害薬は、薬剤性の内耳障害に対する新規治療となる可能性があることが示唆された。



引用文献

- 1) Cheng AG, Cunningham LL, Rubel EW. Mechanisms of hair cell death and protection. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005; 13:343-8.
- 2) Someya S, Xu J, Kondo K et al. Age-related hearing loss in C57BL/6J mice is mediated by Bak-dependent mitochondrial apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:19432-7.
- 3) Kashio A, Sakamoto T, Kakigi A et al. Topical application of the antiapoptotic TAT-FNK protein prevents aminoglycoside-induced ototoxicity. *Gene Ther.* 2012 ;19:1141-9.
- 4) Degterev A, Huang Z, Boyce M et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol.* 2005;1:112-9.
- 5) Silke J, Rickard JA, Gerlic M. The diverse role of RIP kinases in necroptosis and inflammation. *Nat Immunol.* 2015;16:689-97.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kamogashira T, Fujimoto C, Kinoshita M, Kikkawa Y, Yamasoba T, Iwasaki S*	4. 巻 11
2. 論文標題 Prediction of vestibular dysfunction by applying machine learning algorithms to postural instability.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Neurol	6. 最初と最後の頁 7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fneur.2020.00007.	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 Ichijo K, Kinoshita M, Fujimoto C, Uranaka T, Kikkawa YS, Sugasawa K, Yamasoba T, Iwasaki S*	4. 巻 47
2. 論文標題 Acute bilateral vestibulopathy with simultaneous involvement of both superior and inferior vestibular nerves	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 905-908
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.anl.2019.07.007.	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 Fujimoto C, Kamogashira T, Takenouchi S, Kinoshita M, Sugasawa K, Kawahara T, Yamasoba T, Iwasaki S	4. 巻 267
2. 論文標題 Utriculo-ocular pathway dysfunction is more frequent in vestibular migraine than probable vestibular migraine.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neurol	6. 最初と最後の頁 2340-2346
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00415-020-09851-y.	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 Fujimoto Chisato, Kinoshita Makoto, Kamogashira Teru, Egami Naoya, Kawahara Takuya, Uemura Yukari, Yamamoto Yoshiharu, Yamasoba Tatsuya, Iwasaki Shinichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Noisy galvanic vestibular stimulation has a greater ameliorating effect on posture in unstable subjects: a feasibility study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-53834-7	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 Kinoshita Makoto, Fujimoto Chisato, Iwasaki Shinichi, Kashio Akinori, Kikkawa Yayoi S., Kondo Kenji, Okano Hideyuki, Yamasoba Tatsuya	4. 巻 13
2. 論文標題 Alteration of Musashi1 Intra-cellular Distribution During Regeneration Following Gentamicin-Induced Hair Cell Loss in the Guinea Pig Crista Ampullaris	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2019.00481	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 Inoue Aki, Iwasaki Shinichi, Fujimoto Chisato, Kinoshita Makoto, Yamasoba Tatsuya	4. 巻 40
2. 論文標題 Progression of Peripheral Vestibular Dysfunctions in Patients With a Mitochondrial A3243G Mutation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Otology & Neurotology	6. 最初と最後の頁 359 ~ 364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MAO.0000000000002091	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 Fujimoto Chisato, Kawahara Takuya, Kinoshita Makoto, Kikkawa Yayoi S., Sugasawa Keiko, Yagi Masato, Yamasoba Tatsuya, Iwasaki Shinichi, Murofushi Toshihisa	4. 巻 9
2. 論文標題 Aging Is a Risk Factor for Utricular Dysfunction in Idiopathic Benign Paroxysmal Positional Vertigo	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 1049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2018.01049	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 Chisato, Egami Naoya, Kawahara Takuya, Uemura Yukari, Yamamoto Yoshiharu, Yamasoba Tatsuya, Iwasaki Shinichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Noisy Galvanic Vestibular Stimulation Sustainably Improves Posture in Bilateral Vestibulopathy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 900
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2018.00900	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 Kiyama Yuji, Kikkawa Yayoi S., Kinoshita Makoto, Matsumoto Yu, Kondo Kenji, Fujimoto Chisato, Iwasaki Shinichi, Yamasoba Tatsuya, Manabe Toshiya	4. 巻 98
2. 論文標題 The adhesion molecule cadherin 11 is essential for acquisition of normal hearing ability through middle ear development in the mouse	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 1364 ~ 1374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-018-0083-y	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 Iwasaki Shinichi, Fujimoto Chisato, Egami Naoya, Kinoshita Makoto, Togo Fumiharu, Yamamoto Yoshiharu, Yamasoba Tatsuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Noisy vestibular stimulation increases gait speed in normals and in bilateral vestibulopathy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Brain Stimulation	6. 最初と最後の頁 709 ~ 715
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brs.2018.03.005	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 Fujimoto Chisato, Suzuki Sayaka, Kinoshita Makoto, Egami Naoya, Sugasawa Keiko, Iwasaki Shinichi	4. 巻 129
2. 論文標題 Clinical features of otolith organ-specific vestibular dysfunction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Neurophysiology	6. 最初と最後の頁 238 ~ 245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clinph.2017.11.006	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 Uranaka T, Matsuyamoto Y, Kakigi A, Iwasaki S, Yamasoba T.	4. 巻 42
2. 論文標題 Classification of the chorda tympani: An endoscopic study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Otol Neurotol	6. 最初と最後の頁 e355-362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MAO.0000000000002998.	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 Iwasaki S, Shojaku, H, Murofushi T, Seo T, Kitahara T, Origasa H, Watanabe Y, Suzuki M, Takeda N on behalf of Committee for Clinical Practice Guidelines of Japan Society of Equilibrium Research.	4. 巻 48
2. 論文標題 Diagnostic and therapeutic strategies of Meniere's disease of the Japan Society of Equilibrium Research.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 15-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2021.08.008.	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 Fujimoto C, Kinoshita M, Ichijo K, Oka M, Kamogashira T, Sugasawa K, Kawahara T, Yamasoba T, Iwasaki S.	4. 巻 42
2. 論文標題 Cervical vestibular evoked myogenic potentials which are absent at 500 Hz but present at 1,000 Hz are characteristic of endolymphatic hydrops-related disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ear Hear	6. 最初と最後の頁 1306-1312
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/AUD.0000000000001017.	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 Kim J, Palmisano S, Luu W, Iwasaki S.	4. 巻 29
2. 論文標題 Effects of linear visual-vestibular conflict on presence, perceived scene stability and cybersickness in the Oculus Go and Oculus Quest.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Virtual Real	6. 最初と最後の頁 582156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/frvir.2021.582156	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 Fujimoto C, Kawahara T, Kinoshita M, Ichijo K, Oka M, Kamogashira T, Sugasawa K, Yamasoba T, Iwasaki S.	4. 巻 747
2. 論文標題 Minimally important differences for subjective improvement in postural stability in patients with bilateral vestibulopathy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Lett	6. 最初と最後の頁 135706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2021.135706.	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 Inagaki A, Kojima A, Ogawa M, Sakata T, Iwasaki S.	4. 巻 27
2. 論文標題 Imaging manifestations on sequential magnetic resonance imaging in pharyngolaryngeal involvement by varicella zoster virus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neurovirol	6. 最初と最後の頁 180-190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13365-021-00953-5.	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10件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 岩崎真一
2. 発表標題 両側前庭障害の診断と対策
3. 学会等名 日耳鼻埼玉県地方部会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinichi Iwasaki
2. 発表標題 Bilateral vestibulopathy: How to treat and manage? Overview and epidemiology of bilateral vestibulopathy in Japan.
3. 学会等名 第79回日本めまい平衡医学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinichi Iwasaki
2. 発表標題 Noisy galvanic vestibular stimulation as a treatment for bilateral vestibulopathy.
3. 学会等名 3rd Seoul National University Bundang Hospital Dizziness Center Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinichi Iwasaki, Chisato Fujimoto, Takuya Kawahara, Yukari Uemura, Tatsuya Yamasoba
2. 発表標題 Ameliorating effect of noisy galvanic vestibular stimulation on postural stability is greater in originally more unstable subjects.
3. 学会等名 CORLAS Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Gao Ying, Makoto Kinoshita, Shinichi Iwasaki, Akinori Kashio, Yayoi Kikkawa, Tatsuya Yamasoba
2. 発表標題 Differential Morphology to Hair Cells by Gentamicin in Rat Cochlear Organotypic Cultures
3. 学会等名 第29回日本耳科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩崎真一
2. 発表標題 60周年記念シンポジウム「前庭刺激検査の過去と未来」Video head impulse testの原理と実際
3. 学会等名 第77回日本めまい平衡医学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩崎真一
2. 発表標題 Video head impulse test (vHIT)のコツとピットフォール
3. 学会等名 第28回日本耳科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iwasaki S, Kinoshita M, Fujimoto C, Egami N, Yamasoba T.
2. 発表標題 Frequency characteristics of somatoform vertigo and dizziness, bilateral vestibulopathy, and spinocerebellar degeneration.
3. 学会等名 2018 Annual CORLAS Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iwasaki S, Fujimoto C, Egami N, Kawahara T, Uemura Y, Yamamoto Y, Yamasoba T.
2. 発表標題 Effects of long-term noisy vestibular stimulation on body balance in bilateral vestibulopathy.
3. 学会等名 XXX Barany Society Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩崎真一
2. 発表標題 シンポジウムAMED研究：ノイズ前庭電気刺激による前庭障害患者の体平衡機能改善機器の開発
3. 学会等名 第119回 日本耳鼻咽喉科学会総会（招待講演）
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	吉川 弥生 (Kikkawa Yayoi) (00452350)	東京大学・医学部附属病院・届出研究員 (12601)	

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
研究分担者	榎尾 明憲 (Kashio Akinori) (20451809)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	
研究分担者	藤本 千里 (Fujimoto Chisato) (60581882)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	

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