

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：34306

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14910

研究課題名(和文)がんウイルスが独自にコードする転写開始前複合体のウイルス生存戦略における意義

研究課題名(英文)Implication of viral pre-initiation complex consist of KSHV coding genes for survival strategy

研究代表者

渡部 匡史(Watanabe, Tadashi)

京都薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：60634326

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究は、ウイルス性タンパク質から構成されるウイルス性転写開始前複合体(viral pre-initiation complex: vPIC)に焦点をあてた。一般的なウイルスは、ゲノムからmRNAをつくる際に宿主細胞の転写開始前複合体を必要とするが、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスは独自にこの複合体と同じ機能をもつvPICを保持している。この理由を理解するために、個別のvPIC構成因子について検証をすすめた。そしてKSHV ORF66が、vPIC構成因子としてウイルス複製に必須であること、さらには複合体形成やvPIC機能発現に関与するKSHV ORF66アミノ酸残基を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

vPICは、EBウイルスやサイトメガロウイルスなどの類縁ヘルペスウイルスにも保存されている。本研究ではORF66が、vPIC構成因子として機能しウイルス複製に必須であることはもちろん、ORF66上の複合体形成に必要なアミノ酸残基の同定を介して、複合体形成の分子基盤に関する知見を、類縁ヘルペスウイルス研究に先駆けて得ることができた。vPICは一部ヘルペスウイルスが独自に保有する分子機構で、かつウイルス粒子形成のためのウイルス構造タンパク質発現に必須であることから、有望な創薬標的ともなりうる。さらなるvPIC解析の進展により、新規作用機序の抗ヘルペスウイルス薬の開発につながるものだと考える。

研究成果の概要(英文):We focused on viral pre-initiation complex(vPIC) consist of viral proteins. A large number of viruses needs host cell's pre-initiation complex when its mRNAs are transcribed. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) possesses vPIC, whose functions are nearly equal to host pre-initiation complex. To reveal the why KSHV utilizes its own pre-initiation complex, individual vPIC component are investigated. As the results, KSHV ORF66 is essential for viral replication as the vPIC component. Furthermore, we identified domains and amino acid residues of KSHV ORF66, contributed to complex formation and function.

研究分野：ウイルス学

キーワード：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス 遺伝子発現制御 ウイルス性転写開始前複合体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多くのウイルスは、複製に必要なウイルス性タンパク質を作り出すために、宿主の転写機構を利用する。しかし興味深いことに、がんウイルスであるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)を含む一部のヘルペスウイルス(ヘルペスウイルス亜科(KSHV や EB ウイルスなど)やヘルペスウイルス亜科(サイトメガロウイルスなど))は、転写開始に関わる因子をウイルス独自に保有することが明らかになってきた。真核生物では、TATA-box binding proteinをはじめとした基本転写因子群で構成される転写開始前複合体(Pre-Initiation Complex: PIC)を形成し、RNAポリメラーゼによる転写を開始する。ウイルス性タンパク質が転写される際も、通常はこの機構が利用される。一方、KSHVを含むヘルペスウイルスが、真核細胞の基本転写因子と機能的相同性を有するタンパク質群をコードし、これらがウイルス性転写開始前複合体(viral Pre-Initiation Complex: vPIC)として、宿主のPICと同様に機能しうることが、我々を含む複数のグループにより報告されてきた。

KSHVは90種以上の多様な遺伝子の発現時期を、段階的に調節することでウイルス複製・感染性ウイルス粒子放出を遂げる。KSHV遺伝子は、発現時期により潜伏関連、前初期、初期、後期遺伝子に分類される。エンベロープやカプシドなどのウイルス粒子構成タンパク質を含む後期遺伝子群の転写開始領域には、真核生物のTATAボックスに相当する“TATTモチーフ”とよばれる塩基配列が存在する。vPICはこのTATTモチーフを認識し機能することで、後期遺伝子の遺伝子発現に寄与すると考えられている。すなわち、vPICはウイルス遺伝子群の発現の最終段階を司る、ウイルス複製にとってきわめて重要なウイルス分子複合体であるといえる。

KSHVは、カポジ肉腫などの上皮系がんおよびB細胞リンパ腫の原因ウイルスである。KSHV初感染後、通常の場合では生涯に渡り潜伏感染状態を維持し、上記のがんを発症することはまれである。しかしながら、感染者が極度な免疫低下状態(AIDS発症や臓器移植後の免疫抑制など)に陥った場合、発がんに至ることが知られている。

日本をはじめとした先進諸国では、AIDS関連KSHV腫瘍が主たる臨床的な問題となっている。HIV-1感染の確実な拡大や、いわゆる「いきなりAIDS」の増加から、AIDS関連KSHV腫瘍の患者数増加が見込まれる。単純ヘルペスウイルスなどとは異なりKSHV複製そのものを効果的に阻害する薬剤が存在しないため、抗がん剤による対症療法が第一選択となっているが、患者状態により適応できないケースも存在するのが現状である。また、アフリカ諸国ではKSHV感染率およびがん発症率とも高く、国際的に緊急に解決すべき感染症として認知されている。以上のことから、KSHV関連腫瘍の克服ならびに抗KSHV薬の開発は、国内的に重要であるとともに、さらに国際的にはグローバル・ヘルスへの貢献といった観点からもきわめて重要であるといえる。

2. 研究の目的

KSHVは自身の遺伝子発現時に、なぜ独自にもつウイルス性タンパク質から構成されるPICをもちいるのかという問いに対する答えを探索すること、かつKSHV関連疾患に対する治療戦略確立のためにvPICを分子構造レベルで理解することが、本研究の目的であった。

ウイルスは通常、宿主の基本転写因子を利用する。しかしKSHVは、通常のウイルスが不必要な、宿主性の基本転写因子と機能相同性を有する遺伝子を自身のゲノムにコードしている。すなわちKSHVは、ゲノムサイズの肥大化、複製過程の複雑化というコストを払ってまで、独自の基本転写因子群を備えていることになる。このことはウイルス生存戦略にとって、何を意味するのであろうか。この問いに答えるためにも、ミクロな分子機構の理解から積み重ねる必要があった。また分子機構を明らかにすることは創薬標的の発見にもつながるものである。

vPICを構成する各ウイルス性因子の同定が進んでいる一方で、個々の機能や構造、複合体全体の構成様式については未解明な部分が多い。そこでKSHVにおいて、vPIC構成因子候補であったKSHV ORF66を中心に、ウイルス複製での役割の解析、そして複合体形成や機能発現に重要な分子内構造についてアミノ酸レベルでの機能解明をすすめた。

3. 研究の方法

BAC改変系を用いてORF66欠損KSHV-BACクローンを構築した。さらにBACクローン導入によりORF66欠損KSHV産生細胞を樹立し、各種解析によりORF66が関与するウイルス複製過程の同定を試みた。さらにORF66分子機能についてもドメインレベル・アミノ酸レベルでの詳細な解析に取り組んだ。各種ORF66欠失変異体・点変異体を持ちいて、vPIC形成能、ウイルス複製への寄与、遺伝子発現への影響などを評価するとともに、立体構造予測モデルを構築し、機能と構造との相関性について考察した。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

ORF66 欠損 KSHV 産生細胞と野生型 KSHV 産生細胞との比較から、ORF66 欠損によりウイルス産生細胞からのウイルス放出量は約 1/1000 まで低下することを確認した。また vPIC が制御するウイルス遺伝子発現に関しては、ORF66 欠損によってウイルス後期遺伝子群を中心に発現量が低下していることが、RT-qPCR アレイによる KSHV 遺伝子の半網羅的発現解析から明らかになった。さらに、クロマチン免疫沈降(ChIP)法により、ORF66 がウイルス複製誘導時に、TATT モチーフを含む後期遺伝子転写開始領域領域と結合することを確認した。以上のことから、ORF66 が vPIC 構成因子として機能することが、KSHV 複製とくに後期遺伝子発現において重要であることが強く示唆された。

次に、vPIC において ORF66 がどのように機能しているのか、またその機能に重要な要素は存在するのかを明らかにすべく、ORF66 機能性領域の探索を試みた。具体的には、vPIC 形成において ORF66 も含めた複数のウイルス性因子と会合することでハブとして機能する ORF34 と ORF66 の相互作用部位の同定に取り組んだ。手法としては、ORF34 と ORF66 各種変異体との共発現系における Pull-down アッセイを用いた。その結果、ORF66 欠失変異体による結合解析より C 末端側領域が ORF34 との会合に重要であることが明らかとなった。

この結果を受けて、KSHV ORF66 と他の類縁ヘルペスウイルスの相同性遺伝子のアミノ酸配列を比較すると、ORF66 C 末端領域は一程度の相同性が保存されていた。よって、欠失変異体解析により同定した領域上で、類縁ウイルスで保存されているアミノ酸を、領域ごとに 1-4 残基アラニン置換した点変異体を作製した。

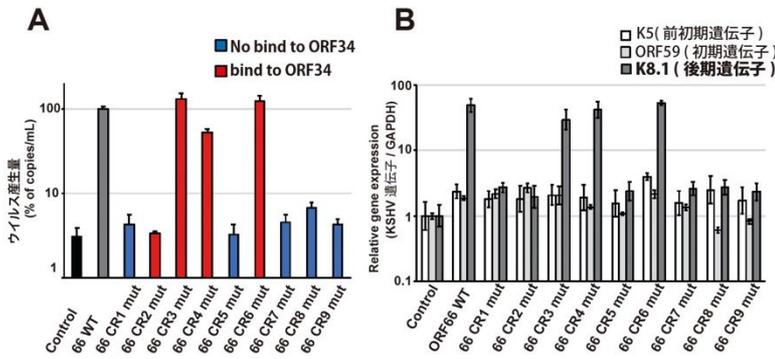


図 1: ORF66 欠損状況下における各種 ORF66 変異体の回復能

- A) ORF66 点変異体によるウイルス産生回復
- B) ORF66 点変異体によるウイルス遺伝子発現回復

全てで回復が観察されなかった。一方、結合能を有する置換体では回復を認めた。しかし、一部の置換体では回復は認められなかった。またウイルス後期遺伝子発現に対する影響も同様であった[図 1]。よって、ORF34 との結合は ORF66 が機能するための必要条件ではあるが十分条件ではないことが示された。その他の因子との結合も ORF66 の重要な機能の一つであることが推測される。

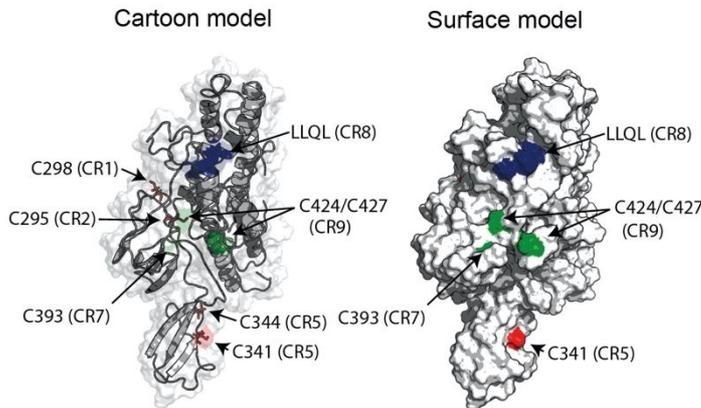


図 2: ORF66 立体構造予測モデル図

Homology-modeling による ORF66 立体構造予測図 および重要アミノ酸残基群

これら ORF66 アラニン置換体による結合解析より、いくつかの C-X-X-C 配列 (C295/C298, C341/C344, C424/C427) やロイシン重複配列 (L412/L413/L415) が ORF34 との会合に必須であることが示された。ORF66 アラニン置換体をそれぞれ ORF66 欠損ウイルス産生細胞に導入し定常発現細胞を樹立し、ウイルス産生量の回復度を評価したところ、ORF34 との結合能を失った置換体

あわせてホモロジー・モデリング法により、KSHV ORF66 立体構造推定モデルを構築し、検討結果と照合した。その結果、今回同定した ORF66 中の C-X-X-C 配列は二価イオンである亜鉛を捕捉することで全体構造の安定化に関与しうること、ロイシン重複配列は分子表面に露出し ORF34 との直接的な結合に寄与しうることが示唆された[図 2]。以上の結果をまとめた原著論文を、Journal of virology 誌に投稿し、掲載された (Watanabe T. et al. J. Virol., 2020)。

(2)得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

vPIC 研究に関しては新規なメカニズムであることから、競合研究者も多い。実際に今回の研究課題についても研究内容の大部分が競合していた。国際学会発表を契機に、競合研究者とコンタクトを取り合いながら、最終的に同一誌に同時掲載という形をとることができた(Didychuk A. L. *et al.* *J. Virol.*, 2020)。このことは、本研究の着眼点の正しさを認識させるものであった。さらに、両者の報告内容の結果・結論もほぼ一致することから、研究データの正確性、再現性も証明された。しかしながら、我々は立体構造推定モデルを用いたことにより、一歩踏み込んだ形で報告できたと考えている。

(3)今後の展望

vPIC 構成因子としてコンセンサスがえられているのは、計 6 種のウイルス性タンパク質である。しかしながら宿主の転写開始前複合体は、RNA ポリメラーゼ を除くと計 32 種のサブユニット群から構成されており、実際の vPIC は宿主性タンパク質も含まれた状態で機能しうると考えられる、よって複合体の全容や制御機構を捉えるうえでも宿主相互作用因子の同定は、喫緊の課題であると考ええる。

<引用文献>

Watanabe T, Nishimura M, Izumi T, Kuriyama K, Iwaisako Y, Hosokawa K, Takaori-Kondo A, Fujimuro M.

Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus ORF66 Is Essential for Late Gene Expression and Virus Production via Interaction with ORF34.

J Virol., 2020, 94:e01300-19. doi: 10.1128/JVI.01300-19.

Didychuk AL, Castañeda AF, Kushnir LO, Huang CJ, Glaunsinger BA.

Conserved Cxnc Motifs in Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus ORF66 Are Required for Viral Late Gene Expression and Are Essential for Its Interaction with ORF34.

J Virol., 2020, 94:e01299-19. doi: 10.1128/JVI.01299-19.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Watanabe Tadashi, Nishimura Mayu, Izumi Taisuke, Kuriyama Kazushi, Iwaisako Yuki, Hosokawa Kohei, Takaori-Kondo Akifumi, Fujimuro Masahiro	4. 巻 94
2. 論文標題 Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus ORF66 Is Essential for Late Gene Expression and Virus Production via Interaction with ORF34	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 1300
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.01300-19	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 Ishimaru Hanako, Hosokawa Kohei, Sugimoto Atsuko, Tanaka Riho, Watanabe Tadashi, Fujimuro Masahiro	4. 巻 10
2. 論文標題 MG132 exerts anti-viral activity against HSV-1 by overcoming virus-mediated suppression of the ERK signaling pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6671
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-63438-1	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 Ishiura Yuki, Ishimaru Hanako, Watanabe Tadashi, Fujimuro Masahiro	4. 巻 42
2. 論文標題 Sulforaphane Exhibits Cytotoxic Effects against Primary Effusion Lymphoma Cells by Suppressing p38MAPK and AKT Phosphorylation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 2109 ~ 2112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b19-00659	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 Watanabe Tadashi, Fujimuro Masahiro	4. 巻 139
2. 論文標題 Replication Machinery of Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus and Drug Discovery Research	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 69 ~ 73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/yakushi.18-00164-2	査読の有無 無
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36件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 橋本彩, 渡部匡史, 杉本温子, 藤室雅弘
2. 発表標題 KSHVがコードするウイルス性キナーゼORF36の性状解析
3. 学会等名 第32回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tadashi Watanabe, Mayu Nishimura, Kazushi Kuriyama, Aya Hashimoto, Kouhei Hosokawa, Mel Campbell, Ryan Davis, Clifford G. Tepper, Yoshihiro Izumiya, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 Kaposi 's Sarcoma-Associated Herpesvirus ORF66 is Essential for Virus Production and Late Gene Expression
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tadashi Watanabe, Mayu Nishimura, Kazuhi Kuriyama, Aya Hashimoto, Kouhei Hosokawa, Mel Campbell, Ryan R. Davis, Clifford G. Tepper, Yoshihiro Izumiya, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 Kaposi 's sarcoma-associated herpesvirus ORF66 is essential for late gene expression via the formation of viral pre-initiation complex
3. 学会等名 Chromatin Control of Viral Infection 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鶴見さやか, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスにコードされるORF17のプロテアーゼ機能はウイルス産生に必須である
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 祝迫佑紀, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするタンパク質ORF7の機能解析
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tadashi Watanabe, Mayu Nishimura, Kazushi Kuriyama, Aya Hashimoto, Kohei Hosokawa, Mel Campbell, Ryan Davis, Clifford G. Tepper, Yoshihiro Izumiya, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ORF66 is essential for virus production and late gene expression
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chie Ito, Tadashi Watanabe, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 ウイルス複製におけるカボジ肉腫関連ヘルペスウイルス遺伝子ORF11の生理的役割について
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miwa Tanaka, Tadashi Watanabe, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするORF28の機能解析
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sayaka Tsurumi, Tadashi Watanabe, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスにコードされるORF17のプロテアーゼ機能はウイルス産生に必須である
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshiko Maeda, Tadashi Watanabe, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスにおけるウイルス性開始前複合体タンパク質の相互作用解析
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鶴見さやか, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするORF17のプロテアーゼ活性は, ウイルス成熟カプシド形成に必須である
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 祝迫佑紀, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルス遺伝子ORF7のウイルス複製時における機能解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 花尻 美月, 寺尾 友岐, 松本 遼太郎, 渡部 匡史, 藤室 雅弘
2. 発表標題 KSHV感染はSnailの安定化を介して上皮間葉転換を促進する
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉澤 想大, 中村 甚弥, 渡部 匡史, 藤室 雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするLANAはがん遺伝子産物ELLを安定化する
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 門田彩乃, 森口美里, 渡部匡史, 中村茂夫, 安野拓美, 大江知之, 増野匡彦, 藤室 雅弘
2. 発表標題 ピリジニウム型フラレン誘導体のウイルス感染リンパ腫に対する抗腫瘍活性
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルス遺伝子ORF66は、ウイルス性転写開始前複合体因子として機能する
3. 学会等名 第60回日本臨床ウイルス学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部匡史, 西村麻佑, 栗山和志, 橋本彩, 細川晃平, 泉屋吉宏, 藤室雅弘
2. 発表標題 KSHV ORF66は、ウイルス性転写開始前複合体形成を介してウイルス後期遺伝子発現に寄与する
3. 学会等名 第33回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tadashi Watanabe, Mayu Nishimura, Kazushi Kuriyama, Aya Hashimoto, Kouhei Hosokawa, Yoshi Izumiya, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 KSHV ORF66 is essential for late gene expression via the formation of viral pre-initiation complex
3. 学会等名 22nd International Workshop on Kaposi ' s Sarcoma Herpesvirus and Related Agents
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Iwaisako, Tadashi Watanabe, Youichi Suzuki, Takashi Nakano, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 KSHV ORF7 contributes to mature capsid formation
3. 学会等名 22nd International Workshop on Kaposi ' s Sarcoma Herpesvirus and Related Agents
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口達生, 渡部匡史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) 複製におけるウイルス性キナーゼORF21の機能解析
3. 学会等名 第16回EBウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 祝迫佑紀, 渡部匡史, 鈴木陽一, 中野隆史, 藤室雅弘
2. 発表標題 カボジ肉腫関連ヘルペスウイルス遺伝子ORF7のウイルス複製時における機能解析
3. 学会等名 第31回微生物シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 門田彩乃, 森口美里, 渡部匡史, 中村成夫, 安野拓実, 大江知之, 増野匡彦, 藤室雅弘
2. 発表標題 ビリジニウム型フラレン誘導体のB細胞性リンパ腫に対する抗腫瘍活性
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森口美里, 渡部匡史, 上原孝, 藤室雅弘
2. 発表標題 KSHVがコードするタンパク質のS-ニトロシル化修飾
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Iwaisako, Tadashi Watanabe, Yoichi Suzuki, Takashi Nakano, Masahiro Fujimuro
2. 発表標題 KSHV ORF7 contributes to mature capsid formation
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Tadashi Watanabe, Atsuko Sugimoto, Kohei Hosokawa, Masahiro Fujimuro	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer, Singapore	5. 総ページ数 501 (pp321-355)
3. 書名 Human Herpesviruses; Signal Transduction Pathways Associated with KSHV-Related Tumors, Ch.15	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>京都薬科大学 細胞生物学分野 HP http://labo.kyoto-phu.ac.jp/cellbiology/ 日本薬学会近畿支部総会・大会において、本学の学生7名がポスター賞を受賞しました https://www.kyoto-phu.ac.jp/news/index.php?c=topics_view&pk=478&icon=</p>

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
研究協力者	藤室 雅弘 (Fujimuro Masahiro)		