

令和 6 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16593

研究課題名（和文）軸索に着目した筋萎縮性側索硬化症の運動ニューロン選択的変性に関わる新規因子の探索

研究課題名（英文）Axonal RNA study based on Dying back hypothesis for novel factors involved in motor neuron selective degeneration of Amyotrophic Lateral Sclerosis.

研究代表者

光澤 志緒 (Mitsuzawa, Shio)

東北大学・医学系研究科・医員

研究者番号：60869618

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：筋萎縮性側索硬化症（ALS）の運動ニューロン選択的変性の原因解明を目標とし、TARDBP変異ALS患者の人工多能性幹細胞（iPS細胞）由来運動ニューロン（iMN）を用いて、軸索分画のRNAシーケンス（RNA-Seq）を行い、変異軸索で発現が減少し、神経突起伸長に関与するPHOX2Bを見出した。さらに、PHOX2Bが豊富かつALSで保たれやすい自律神経と、運動ニューロンのRNA発現比較を行い、PHOX2Bの下流標的遺伝子候補を絞り込んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は成人発症難治性進行性の致死的な神経変性疾患である。病態は未解明で根本的治療法はない。

PHOX2BはALSで発症後長期まで保たれる自律神経等に多く含まれるが、これまでALSとの関連が指摘されていなかった。PHOX2Bの下流に位置する治療標的を見出すことは、ALS病態解明と新規治療法開発につながると考える。さらにPHOX2B mRNAはTARDBP mRNAやそのタンパクTDP-43との相互作用や結合が確認され、PHOX2B下流の治療標的的研究は、患者病理でみられるような細胞内TDP-43異常凝集をきたす神経筋疾患群の病態研究にも貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is an adult-onset, progressive and fatal neurodegenerative disease that causes generalized muscle weakness and atrophy, breathing and swallowing dysfunction. To elucidate the cause of selective degeneration of motor neurons in ALS, induced pluripotent stem cells (iPS cells) from TARDBP mutant ALS patients were differentiated to motor neurons (iMNs). Axon fractionated RNA sequencing (RNA-Seq) of iMNs revealed PHOX2B, which is down-regulated in the mutant axons and involved in neurite outgrowth. Furthermore, we compared the RNA expression of iMNs with iPS cells derived autonomic neurons, which were rich in PHOX2B and maintained in ALS late-stage. Some downstream target candidate genes of PHOX2B have narrowed down.

研究分野：神経変性疾患

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 TARDBP TDP-43 iPS細胞 運動ニューロン選択的変性 PHOX2B

1. 研究開始当初の背景

(1) 筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) とは

成人発症で、上位 (大脳皮質運動野) および下位 (脊髄前角細胞および脳幹部運動核) 運動ニューロン変性をきたす。全身の筋力低下・筋萎縮から呼吸・嚥下機能障害を呈し、発症後 3~5 年で死に至る。病態は未解明で根本的治療法はなく、治療薬の開発が急務である。

(2) TDP-43 (TAR DNA binding protein 43 kDa) の病態解析上の重要性

ALS の約 10% が家族性であり、原因遺伝子の内訳として、本邦では、*SOD1* (Cu/Zn superoxide dismutase)、*FUS* (fused in sarcoma) に次いで、*TARDBP* (transactive response DNA binding protein) が 3 番目に多いことを申請者らの研究グループは報告している (引用文献)。 *TARDBP* がコードする TDP-43 は RNA 結合蛋白のひとつで、多くの孤発性および家族性 ALS 患者の運動ニューロン細胞質に凝集することが病理学的な特徴である。 *TARDBP* 変異の家族性 ALS に占める頻度と、孤発性と家族性 ALS の病理の類似性から、TDP-43 は ALS の病態解析上重要と考えられる。

(3) 運動ニューロン選択的変性の病態は未解明

ALS では、運動ニューロン系が選択的および進行性に変性する。感覚神経系や自律神経系、運動ニューロンの中でも動眼神経は発症後長期まで保たれ、眼球運動の追跡装置を使用して意思疎通を図る患者もいる。なぜこのような選択的変性がみられるのかの理由は解明されていない。

(4) 軸索に着目した研究で見出した *TARDBP* 変異運動ニューロン軸索における転写制御因子 PHOX2B 発現低下

ALS モデル動物やヒト ALS 病理学的検討から、運動ニューロン変性はその長大な神経突起である軸索異常からはじまる可能性を示す報告がある (引用文献)。そこで、*TARDBP* 変異をもつ家族 ALS 患者より樹立した iPS 細胞由来の運動ニューロンを用いて、軸索に着目した RNA シークエンス (RNA-Seq) を実施し、軸索分画の RNA-Seq から変異運動ニューロン軸索で変動する複数因子を同定した。その中から、発現抑制実験で、*TARDBP* 変異運動ニューロンのように突起伸長を抑制させる新規病態関連因子 PHOX2B を見出した (図 1)。変異運動ニューロン軸索で発現が低下している新規病態関連因子 PHOX2B は、ALS で発症後長期まで保たれる動眼神経や自律神経において発現が高く (引用文献) 発現量が細胞生存にも関わることから (引用文献) 変異運動ニューロンの選択的変性のカギとなる可能性がある。

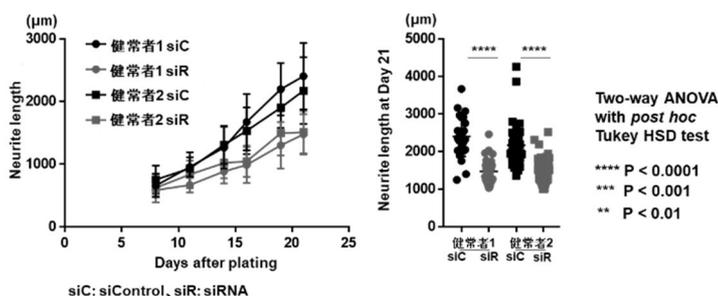


図1 *PHOX2B* のノックダウンで
健常者由来運動ニューロンの突起長が短縮した

2. 研究の目的

本研究では、新規病態関連因子 PHOX2B の発現の再現性と、過剰発現や動物モデルの表現型を確認する。また、PHOX2B による運動ニューロン選択的変性の解明および下流の治療標的を見出すことを目指す。

3. 研究の方法

(1) ヒト iPS 細胞アイソジェニックラインを用いた *PHOX2B* 発現変化の再現性の確認

本研究では、健常者から樹立した iPS 細胞へ、ゲノム編集で *TARDBP* 変異を導入し、同じヒト由来で変異の有無以外は同じ背景遺伝子をもつ 1 セットのアイソジェニックラインを使用する。アイソジェニックラインは武田薬品工業株式会社より分与いただいた。それら iPS 細胞から分化誘導した運動ニューロン (iMN) を用いた RNA-Seq で、*PHOX2B* が変異運動ニューロン軸索で低下することを確認する。

(2) in vitro での *PHOX2B* の過剰発現実験

TARDBP 変異をもつ ALS 患者 iPS 細胞由来運動ニューロンの表現型として、健常者由来と比較して神経突起伸長の抑制や、培養上清や免疫細胞化学での細胞死マーカーの増加が報告されている。本研究では、レンチウイルスベクターによる *PHOX2B* の過剰発現で変異運動ニューロン突起長の改善や細胞死の軽減を観察する。

(3) in vivo での *PHOX2B* の発現抑制実験

胚や幼生が無色透明で生体の軸索観察が容易なゼブラフィッシュを用い、*Phox2B* の投与による過剰発現やモルフォリンの投与による発現抑制で、ゼブラフィッシュの運動機能や脊髄運動ニューロン軸索長、形態の変化を評価する。運動ニューロンの評価には、Hb9 プロモーター下に改変 GFP である Venus を発現するレンチウイルスベクターを用いて、運動ニューロンを蛍光標識する。

(4) 転写因子 PHOX2B の減少が運動ニューロン変性に関わる細胞内機構の確認

転写因子である PHOX2B の機能を仲介する標的分子を PHOX2B 抑制細胞の RNA-Seq で確認する。また、ヒト iPS 細胞を、PHOX2B を多く含み ALS 発症後期まで保たれやすい動眼神経や自律神経に分化誘導し RNA-Seq を行う。運動ニューロンの RNA-Seq 結果と比較することで、PHOX2B やその標的分子の発現量、さらに運動ニューロン選択的変性に関与する遺伝子を絞り込む。

4. 研究成果

○研究の主な成果

(1) ヒト iPS 細胞アイソジェニックラインを用いた PHOX2B 発現変化の再現性の確認

本研究では、健常者から樹立した iPS 細胞へ、ゲノム編集で TARDBP 変異を導入し、同じヒト由来で変異の有無のみ異なる 1 セットのアイソジェニックラインを運動ニューロンへ分化誘導した。TARDBP 変異の有無のみ異なる iMN でも、軸索分画 RNA-シークエンスにおいて TARDBP 変異運動ニューロン軸索で PHOX2B が低下することを確認した。

追加で PHOX2B 発現変化と TDP-43 との関連について検討した。PHOX2B を多く含む神経芽細胞種由来細胞 (SH-SY5Y 細胞) を用いて、抗 TDP-43 抗体を用いた RNA immunoprecipitation (RIP) を実施すると、内因性の野生型 TDP-43 との結合が確認できた (図 2A)。さらに、PHOX2B mRNA の iMN 内での局在を single molecule fluorescence in situ hybridization にて評価すると、健常者由来 iMN では細胞体や軸索の一部に PHOX2B mRNA の局在が確認できたが、TARDBP 変異をもつ ALS 患者由来 iMN では軸索内の PHOX2B mRNA は乏しかった (図 2B)。

さらに、健常者由来 iMN と TARDBP 変異を導入した iMN のアイソジェニックライン間で PHOX2B mRNA の発現量の変化がどのような機序で生じているかを検討するために、アクチノマイシン D 投与で新規の mRNA 転写を阻害し、PHOX2B mRNA の発現量を経時的に確認した。TARDBP 変異を導入した iMN では早期に PHOX2B mRNA の発現量が減少することが分かり、PHOX2B mRNA の安定性低下が TARDBP 変異を導入した iMN の PHOX2B mRNA 減少に寄与していると考えられた (図 3)。

(2) in vitro での PHOX2B の過剰発現実験

TARDBP 変異をもつ ALS 患者 iPS 細胞由来 iMN の表現型として、健常者由来と比較して神経突起伸長の抑制や、培養上清や免疫細胞化学での細胞死マーカーの増加が報告されている。本研究では、PHOX2B 過剰発現実験において神経突起伸長や細胞死マーカーの発現の変動を評価することとした。PHOX2B 過剰発現は、iPS 由来運動ニューロンに GFP タグ付き PHOX2B を発現するレンチウイルスベクターを感染させることで過剰発現を試みた。PHOX2B-GFP は RNA レベルで容量依存的に発現が上昇する一方で内因性の PHOX2B の発現が減少しており、タンパクレベルでも同様の変化が認められた。運動ニューロン内の PHOX2B 総発現量を増やし、過剰発現を行うことは困難だった。

(3) in vivo での PHOX2B の過剰発現・発現抑制実験

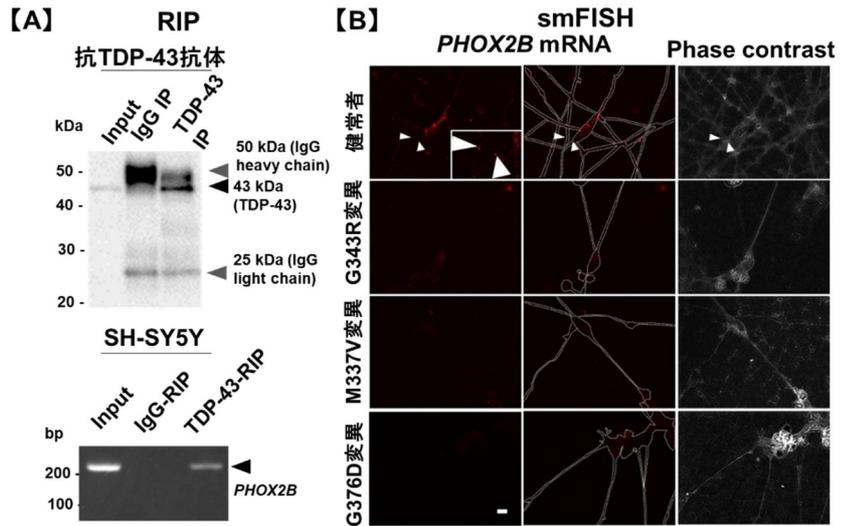


図2 PHOX2B mRNAはTDP-43と結合し、smFISHでは細胞体と健常者由来iMNの軸索に局在する

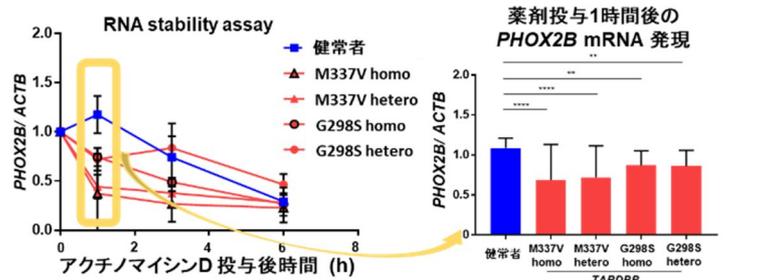


図3 TARDBP変異を導入したiMNでは早期にPHOX2B mRNAの発現量が減少した

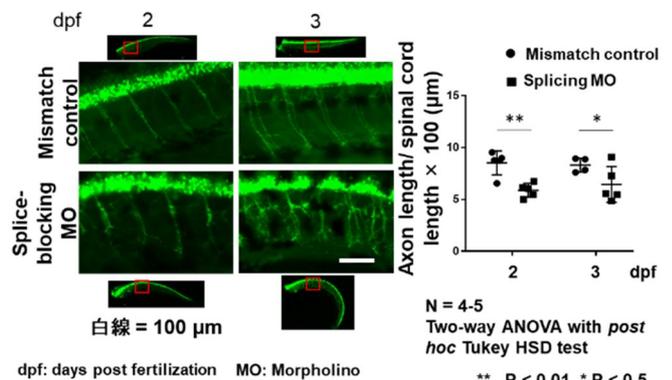


図4 Phox2Bのノックダウンでゼブラフィッシュの軸索長が短縮した

胚や幼生が無色透明で生体の軸索観察が容易なゼブラフィッシュを用い、*Phox2B* に対するモルフォリノの投与による発現抑制実験を行った。Hb9 プロモーター下に改変 GFP である Venus を発現するレンチウイルスベクターを用いて、蛍光標識されたゼブラフィッシュ脊髄運動ニューロンを観察すると、軸索長が短縮する形態変化を観察した(図4)。さらに、尾への刺激に対する反応性を評価すると、*Phox2B* の発現抑制でゼブラフィッシュの反応性が著明に低下した(図5)。以上から、生体においても *Phox2B* が運動ニューロンの軸索の形態や運動機能に関連することが確認できた。さらに、*TARDBP* と同様に ALS の原因遺伝子の1つである *SOD1* の変異をもつ human *SOD1* transgenic (Tg) ラット (ALS モデルラット) の腰髄の免疫細胞化学を行うと、正常のラットでは脊髄運動ニューロンに存在する *Phox2b* の発現が、ALS モデルラットでは減少していることも確認した(図6)。

ここまでの *TARDBP* 変異 iMN の突起伸長抑制に *PHOX2B* 発現低下が関わっている可能性を示す内容を、Stem Cell Reports に報告した(引用文献)

(4) 転写因子 PHOX2B の減少が運動ニューロン変性に関わる細胞内機構の確認

PHOX2B 下流標的因子の検索のために、神経芽細胞種由来細胞を用いた *PHOX2B* 発現抑制細胞の RNA シークエンスを行ったが、優れた変動を示す遺伝子群の検出は難しかった。*PHOX2B* 過剰発現困難の結果と併せて、ニューロン内では *PHOX2B* は厳格に制御されており、*PHOX2B* の下流標的因子の特定には、単なる過剰発現や発現抑制実験のみでは不十分と考えた。*PHOX2B* を多く含む ALS で発症後期まで保たれる自律神経と運動ニューロンとの比較で下流標的因子の候補を見出すことで、運動ニューロン選択的変性に繋がる *PHOX2B* の下流標的因子へ近づけると考えた。

PHOX2B を多く含む ALS で発症後期まで保たれる自律神経の分化誘導を行い誘導後の細胞の評価を行った。Kirino らの既報告(引用文献)を基に分化誘導を行うこととし、論文の著者に問い合わせをし、プロトコールの修正と、*PHOX2B* プロモーター下に eGFP を発現するレポーター細胞である *PHOX2B::eGFP* 細胞の供与を受けた。誘導後細胞の免疫細胞化学、および上記既報告の著者らより分与いただいた *PHOX2B* プロモーター下に eGFP を発現するレポーター細胞である *PHOX2B::eGFP* 細胞の誘導後の GFP 陽性率により評価し、高い誘導効率を得た(図7)。iPS 由来自律神経ニューロンを、運動ニューロンと同様に細胞体と軸索に分けて RNA シークエンスを実施し、解析中である。

○得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

TDP-43 は ALS の病態に深くかかわり、重要であるが、*TARDBP* ホモ接合性欠失マウスは胎性致死で(引用文献) しかも TDP-43 は自己の発現量を厳密に制御している(引用文献)。そのため、TDP-43 を直接標的とした発現抑制は ALS の治療戦略になりにくく、TDP-43 と関連がある他の標的を見出す必要がある。

本研究では、運動ニューロン軸索に着目した解析を行った。ALS モデル動物やヒト ALS 病理学的検討から、運動ニューロン変性はその長大な神経突起である軸索異常からはじまる可能性が示されている。ALS の軸索に着目した報告は近年増加しており、*TARDBP* 変異においても軸索輸送障害や局所翻訳の報告が多数あり(引用文献) ALS 患者の TDP-43 病理に類似した細胞質内 TDP-43 の増加と関連する報告もある(引用文献) 重要な視点である。今回評価した iMN の神経突起伸長の抑制は、これまでの報告とも一致した表現型であり、軸索を含めた神経突起の形態異常が ALS の原因遺伝子変異により生じることを改めて示した。

また、軸索に局在する mRNA には細胞種特異的な差異があることや(引用文献) 特定の mRNA には遺伝子特異的な局所翻訳機構がある報告から(引用文献) 細胞種やそこに含まれる遺伝子に配慮した研究が望まれる。本研究では、ヒト運動ニューロンを用い、さらに *TARDBP* 変異のみ異なるアイソジェニックラインを用いており、見出された新規因子 *PHOX2B* は、ALS 病態解明と TDP-43 に代わる新規治療標的の発見につながる可能性がある。

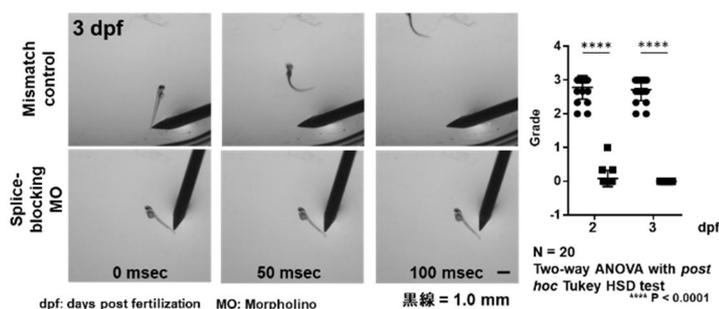


図5 *Phox2B* のノックダウンでゼブラフィッシュの刺激に対する逃避運動が減少した

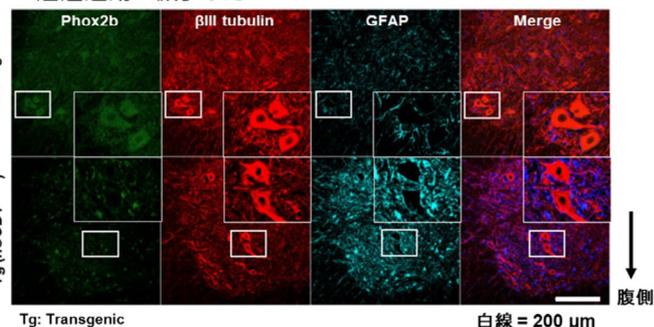
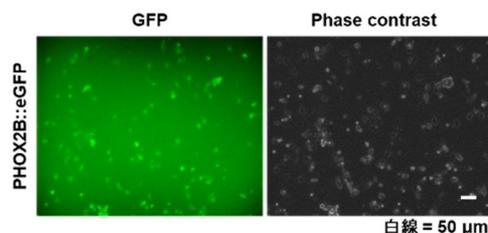


図6 正常ラットの β III tubulin 陽性脊髄運動ニューロンに発現する *Phox2b* は、ALS モデルラットでは減少していた



PHOX2B::eGFP は引用文献⑥の著者より分与いただいた
図7 分化誘導後の細胞は高い GFP 陽性率を示し、自律神経ニューロンへの高い分化誘導効率を示した

○今後の展望

実際、*TARDBP* 発現抑制で *PHOX2B* 発現は減少し、*PHOX2B* mRNA の TDP-43 結合、*TARDBP* 変異運動ニューロン内での安定性低下など、TDP-43 との関わりを確認したが、神経変性を引き起こす機序が未解明である。*PHOX2B* がどのように運動ニューロン変性を来すかの解明を目標に、*PHOX2B* 下流標的因子の評価や、転写調節領域を特定、軸索局所での挙動を研究する。

さらに、生体での研究として、ノックインマウスモデルの作出を行い、*PHOX2B* およびその下流標的因子が関わる、運動機能などの表現型を評価する。

PHOX2B という独自に着目している因子をきっかけに、新しい視点で ALS の病態研究を進めていきたい。加えて、TDP-43 が異常凝集する ALS や類縁疾患、広くタンパク異常凝集をきたす疾患群の病態研究にまで寄与することができれば、生命科学の発展に大きく貢献できる。

<引用文献>

- Nishiyama A, *et al.* Comprehensive targeted next-generation sequencing in Japanese familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging* 2017;53:194.e1-194.e8.
- Tian F, *et al.* Monitoring peripheral nerve degeneration in ALS by label-free stimulated Raman scattering imaging. *Nat Commun* 2016;7:13283.
- Mazzoni E, *et al.* Synergistic binding of transcription factors to cell-specific enhancers programs motor neuron identity. *Nat Neurosci* 2013;16(9):1219-27.
- Kang B, *et al.* Central nervous system distribution of the transcription factor Phox2b in the adult rat. *J Comp Neurol* 2007;503(5):627-41.
- Mitsuzawa S, *et al.* Reduced *PHOX2B* stability causes axonal growth impairment in motor neurons with *TARDBP* mutations. *Stem Cell Reports* 2021;16(6):1527-1541.
- Kirino K, *et al.* Efficient derivation of sympathetic neurons from human pluripotent stem cells with a defined condition. *Sci Rep* 2018;8(1):12865.
- Sephton C, *et al.* TDP-43 is a developmentally regulated protein essential for early embryonic development. *J Biol Chem* 2010;285(9):6826-34.
- Ayala Y, *et al.* TDP-43 regulates its mRNA levels through a negative feedback loop. *EMBO J* 2011;30(2):277-88.
- Alami N, *et al.* Axonal transport of TDP-43 mRNA granules is impaired by ALS-causing mutations. *Neuron* 2014;81(3):536-543.
- Rotem N, *et al.* ALS Along the Axons - Expression of Coding and Noncoding RNA Differs in Axons of ALS models. *Sci Rep* 2017;7:44500.
- Egawa N, *et al.* Drug screening for ALS using patient-specific induced pluripotent stem cells. *Sci Transl Med* 2012;4(145):145ra104.
- Fujimori K, *et al.* Modeling sporadic ALS in iPSC-derived motor neurons identifies a potential therapeutic agent. *Nat Med* 2018;24(10):1579-1589.
- Nagano S, *et al.* TDP-43 transports ribosomal protein mRNA to regulate axonal local translation in neuronal axons. *Acta Neuropathol* 2020;140(5):695-713.
- Fazal R, *et al.* HDAC6 inhibition restores TDP-43 pathology and axonal transport defects in human motor neurons with *TARDBP* mutations. *EMBO J* 2021;40(7):e106177.
- Khalil B, *et al.* mRNP assembly, axonal transport, and local translation in neurodegenerative diseases. *Brain Res* 2018;1693(Pt A):75-91.
- Kelleher R, *et al.* Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity. *Neuron* 2004;44(1):59-73.

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Mitsuzawa S, Suzuki N, Akiyama T, Ishikawa M, Sone T, Kawada J, Funayama R, Shirota M, Mitsuhashi H, Morimoto S, Ikeda K, Shijo T, Ohno A, Nakamura N, Ono H, Ono R, Osana S, Nakagawa T, Nishiyama A, Izumi R, Kaneda S, Ikeuchi Y, Nakayama K, Fujii T, Warita H, Okano H, Aoki M.	4. 巻 16
2. 論文標題 Reduced PHOX2B stability causes axonal growth impairment in motor neurons with TARDBP mutations.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports.	6. 最初と最後の頁 1527-1541
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.stemcr.2021.04.021.	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6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 光澤志緒、鈴木直輝、青木正志
2. 発表標題 iPS細胞由来運動ニューロン軸索を用いた筋萎縮性側索硬化症の病態研究
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shio Mitsuzawa, Suzuki, Akiyama, Ishikawa, Sone, Kawada, Funayama, Mitsuhashi, Nishiyama, Ikeda, Shijo, Nakamura, H. Ono, R. Ono, Izumi, Ohno, Nakagawa, Nakayama, Warita, Okano, Aok.
2. 発表標題 Axonal growth impairment in iPS-derived motor neurons with TARDBP mutations.
3. 学会等名 62st Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shio Mitsuzawa, Naoki Suzuki, Tetsuya Akiyama, Mitsuru Ishikawa, Takefumi Sone, Jiro Kawada, Hiroaki Mitsuhashi, Satoru Morimoto, Kensuke Ikeda, Tomomi Shijo, Akiyuki Ohno, Naoko Nakamura, Hiroya Ono, Risako Ono, Ayumi Nishiyama, Rumiko Izumi, Masaaki Kato, Hitoshi Warita, Hideyuki Okano, Masashi Aoki
2. 発表標題 Reduced PHOX2B stability causes axonal growth impairment in motor neurons with TARDBP mutations
3. 学会等名 PACTALS 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名	Shio Mitsuzawa, Suzuki, Akiyama, Ishikawa, Sone, Kawada, Funayama, Mitsuhashi, Morimoto, Ikeda, Shijo, Ohno, Nakamura, H. Ono, R. Ono, Nishiyama, Izumi, Kaneda, Ikeuchi, Nakayama, Fujii, Warita, Okano, Aoki.
2 . 発表標題	REDUCED PHOX2B STABILITY CAUSES AXONAL GROWTH IMPAIRMENT IN MOTOR NEURONS WITH ALS-LINKED TARDBP MUTATIONS
3 . 学会等名	ISSCR Tokyo 2021 (国際学会)
4 . 発表年	2021年

1 . 発表者名	Shio Mitsuzawa, Suzuki, Akiyama, Ishikawa, Sone, Kawada, Funayama, Shirota, Mitsuhashi, Morimoto, Ikeda, Shijo, Ohno, Nakamura, H. Ono, R. Ono, Osana, Nakagawa, Nishiyama, Izumi, Kaneda, Ikeuchi, Nakayama, Fujii, Kato, Warita, Okano, Aoki.
2 . 発表標題	Axonal growth impairment in motor neurons with TARDBP mutations were mediated by PHOX2B downregulation
3 . 学会等名	32th international symposium on ALS/MND (国際学会)
4 . 発表年	2021年

1 . 発表者名	Shio Mitsuzawa, Naoki Suzuki, Tetsuya Akiyama, Mitsuru Ishikawa, Takefumi Sone, Jiro Kawada, Ryo Funayama, Hiroaki Mitsuhashi, Ayumi Nishiyama, Kensuke Ikeda, Tomomi Shijo, Naoko Nakamura, Hiroya Ono, Risako Ono, Rumiko Izumi, Tadashi Nakagawa, Keiko Nakayama, Hitoshi Warita, Hideyuki Okano, and Masashi Aoki
2 . 発表標題	Axonal pathology in amyotrophic lateral sclerosis with TARDBP mutations.
3 . 学会等名	第61回日本神経学会学術大会 (61st Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology)
4 . 発表年	2020年

〔 図書 〕 計0件

〔 産業財産権 〕

〔 その他 〕

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の新しい病態関連候補因子を発見
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2021/05/press20210528-01-als.html>

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

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