

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591824

研究課題名（和文）悪性腫瘍における酸素代謝の解析と腫瘍酸素加による治療効果増強機構の解明

研究課題名（英文）Analysis of oxygen transport to malignant tumor and mechanism of enhancing effect of treatment by oxygenation of tumor tissue

研究代表者

堀之内 宏久 (HORINOCHI HIROHISA)

慶應義塾大学医学部・外科・准教授

研究者番号：60173647

研究成果の概要(和文)：腫瘍組織では、腫瘍循環が未熟なため低酸素を呈する。細動脈における酸素拡散について、担癌状態でどのように変化するかを測定した。パラジウムコプロポルフィリンの燐光の減衰による組織酸素分圧測定を行った。Nd-YAG パルスレーザーで励起を行い、ピエゾ素子を用いた移動ステージ上に動物を固定し、細動脈壁の酸素拡散係数を求める方法を開発した、Balb/c マウス背部に設置した Dorsal skinfold chamber から観察される内径 40～70 μm 壁厚 20 μm 前後の皮下細動脈を観察した。Balb/c マウスおよびマウス乳癌細胞である MMT060562 を用いた。ドナーマウスより皮下移植腫瘍を摘出、1 ミリ大の移植片として Window 内に移植し、48～72 時間後に直径が 2mm 程度となったところで腫瘍近傍の細動脈について測定した。また、左上肢腋窩部に腫瘍細胞浮遊液を移植、移植後 9～10 日後に腫瘍径が 10mm を超えた時点でマウス背部に Window を設置、4 日後に測定を行った。細動脈壁酸素拡散係数は無処置群では $5.3 \pm 1.1 \times 10^{-11}$ [(cm^2/s)($\text{ml O}_2 \cdot \text{cm}^{-3} \text{ tissue} \cdot \text{mmHg}^{-1}$)]であった。腫瘍移植後の酸素拡散係数はウインドウ内腫瘍群では $3.9 \pm 0.4 \times 10^{-11}$ [(cm^2/s)($\text{ml O}_2 \cdot \text{cm}^{-3} \text{ tissue} \cdot \text{mmHg}^{-1}$)]、腋窩腫瘍群では $3.1 \pm 0.6 \times 10^{-11}$ [(cm^2/s)($\text{ml O}_2 \cdot \text{cm}^{-3} \text{ tissue} \cdot \text{mmHg}^{-1}$)] であり、担癌動物において明らかに酸素拡散係数が低下し、細動脈領域で酸素を通しにくくなっていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：

Usually, tissue oxygen tension is low in malignant tumor. This hypoxic state is due to the imbalance of tumor cell growth and development of tumor circulation. Tumor tissue is supplied oxygen from systemic circulation. Main oxygen supply is suspected to be derived from capillary by diffusion. However, some part of oxygen might be derived from the oxygen molecule diffused from arteriolar lesion.

We have developed the microscope system that enabled us to determine the oxygen diffusion constant of arteriolar wall. We have applied this system to tumor burden animals and examine the oxygen diffusion constant of the subcutaneous arteriolar wall.

We used Balb/c mouse and mouse mammalian tumor (MMT060562). To measure the oxygen diffusion constant of the arteriolar wall, we placed Dorsal Skin Window Chamber on Balb/c mouse. In small tumor group, tumor was implanted in the DSC and let it grow to 2mm. In large tumor group, tumor was implanted at the left arm pit.

Oxygen diffusion constant of arteriolar wall in control group was $5.3 \pm 1.1 \times 10^{-11}$ [(cm^2/s)($\text{ml O}_2 \cdot \text{cm}^{-3} \text{ tissue} \cdot \text{mmHg}^{-1}$)], while in the small tumor group, K was $3.9 \pm 0.4 \times 10^{-11}$ [(cm^2/s)($\text{ml O}_2 \cdot \text{cm}^{-3} \text{ tissue} \cdot \text{mmHg}^{-1}$)] and in the large tumor group K was $3.1 \pm 0.6 \times 10^{-11}$ [(cm^2/s)($\text{ml O}_2 \cdot \text{cm}^{-3} \text{ tissue} \cdot \text{mmHg}^{-1}$)]. There are significant difference between control group and tumor burden groups.

This phenomenon indicated that in tumor burden animals, the amount of oxygen molecules that pass through the arteriolar lesion increases according to the size of tumor. The increase of oxygen diffusion constant around arteriole level seems beneficial for the tumor cells in regards to the survival and growth of malignant tumor.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目:外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード:腫瘍循環、酸素拡散係数、組織酸素分圧、低酸素状態

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍は自律性に増殖するために組織の恒常性を維持すべき血管構築が未熟で、腫瘍組織の組織酸素分圧は低い。低酸素状況にある腫瘍細胞は増殖の際に脱分化の方向に変化し悪性度が高くなると考えられている。また、低酸素状況では化学療法や放射線治療に対する抵抗性が高くなるとされている。低酸素状況を緩和するあるいは解除することで、治療に対する反応性が改善し、治療効果が高くなるとされているが、効率よく腫瘍の酸素分圧を上昇させて治療に結びつける手段がなかった。腫瘍の低酸素状況がどのような機序で形成されているかについても十分に明らかになっていない。

2. 研究の目的

腫瘍組織に対して酸素を供給する主体は毛細血管であると考えられてきた。しかし、細動脈でも酸素分圧の低下は起こっており、酸素拡散が細動脈領域でも起こっていることが推測されていた。しかし、現在まで、細動脈領域での酸素拡散係数を明らかにすることはできなかった。本研究では、1)皮下血管の微小循環を観察し、細動脈領域での酸素分子の移動を観測し、拡散係数を確定する。2)マウスに担癌モデルを作成し、担癌モデルでの細動脈での酸素拡散について測定、検討する。ことを目的とした。

3. 研究の方法

(1)動物、細動脈の観察

動物には Balb/c 雄性マウス 7 週齢を用いた。細動脈の観察にはマウスの Dorsal skin window chamber (以下 DSC) を用いた。(国立保健医療科学院の牛山明主任研究官のご厚意によりチャンバーを譲り受けた。)具体的にはマウスをケタミンキシラジンの混合カクテル 0.25 ml を筋注し、背部に Window chamber を設置した。かんさつ設置後4日して Window 内の環境が安定したのちに Window 内の微小循環、特に細動脈を観察した。(図)



(2)顕微鏡システム及び非侵襲的組織酸素分圧測定システム

DSC 内の細動脈の観察及び組織酸素分圧測定を行う顕微鏡は Nikon 社製生物顕微鏡 E4000 (Nikon, Tokyo, Japan) を改良したプラットフォーム (Sankei, Tokyo, Japan) を用いた。この顕微鏡は落射蛍光装置を装備した。観察はニコン社製 CCD カメラ (DS-Qi1Mc, Nikon, Tokyo, Japan) を用い、画像解析ソフトウェア NIS-Elements を用いて画像を最適化し、観察、計測を行った。

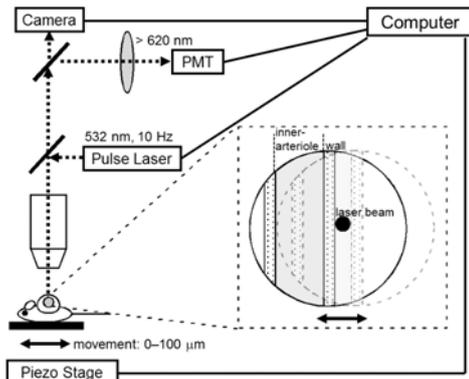
この顕微鏡にレーザー励起組織酸素分圧測定装置 (MIPS-II, New opt, Yokohama Japan) を組み込み、さらに、ステージにはピエゾ素子により 2 次元で制御可能なピエゾステージ (PI GmbH, Karlsruhe, Germany) を搭載し、ステージ制御ソフトをカスタマイズして用いた (PI Japan, Tachikawa, Japan)。

(MIPS-II は慶應義塾大学理工学部南谷晴之教授が開発したレーザー励起組織酸素分圧測定装置の名称である。)

生体の組織酸素分圧を測定するためには組織に針電極を刺入して電極で生まれる電位差から組織酸素分圧を求める方法が主流であったが、細いといえども組織にダメージを与えるため、継時的な測定には適していなかった。本研究で用いたパラジウムコプロポルフィリンの燐光の減衰に基づく酸素分圧測定はパラジウム分子が光によって励起状態となったエネルギーを酸素を消費することにより励起状態から安定状態に穿

刺する際に発せられる燐光の強度が対数的に減少するが、その半減期より組織の酸素分圧を求める方法で、MIPS-II 開発まではフラッシュランプを用いてある程度広い組織の燐光の減衰を拾い、組織分圧を測定していた。本研究ではレーザー光の直径を $23\ \mu\text{m}$ まで絞り、

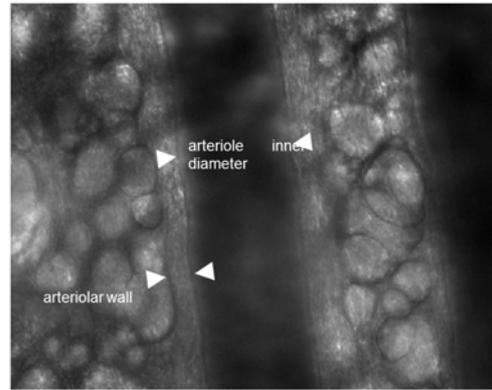
PMT(Photomultiplier, Type R184, Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan))でとらえた燐光の減衰曲線を用いてピンポイントでの組織酸素分圧測定を可能にした。(図)



MIPS-II は 10Hz での酸素分圧測定が可能である。Piezo-stage を X 軸方向に任意の距離で 5Hz で往復できるようにプログラミングした。DSC を設置した動物をピエゾステージ上に置き、DSC をピエゾステージに両面テープで固定した。図のようにピエゾステージを動かすことにより、細動脈の壁を挟んだ内外の部分の組織酸素分圧をほぼ同時に、連続的に計測することが可能となった。

レーザー励起パラジウムコプロポルフィリンの燐光減衰による組織酸素分圧測定では励起したパラジウムが基底状態に戻る際に酸素を消費する。パラジウムの励起が過大であれば、多量の酸素消費が起こり、低酸素状況にある組織では計測自体が低酸素を引き起こすこととなる可能性がある。

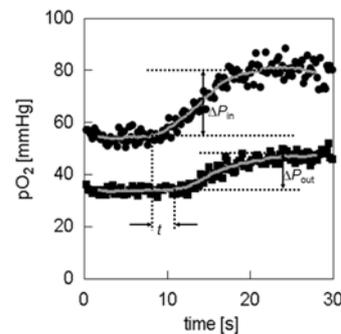
今回用いたレーザーは Q スイッチ Nd-YAG pulse laser(Continuum, Santa Clara, CA, USA) 第 2 高調波(波長 532nm)の緑色の光を用い、パルス幅 6ns、パルスエネルギーは 200nj、繰り返し周波数 10Hz で測定を行った。この周波数であれば、パルス幅が短いので、組織にほとんどダメージを与えず、温度上昇もないことを顕微鏡下に確認している。燐光の減衰を測定する時間幅は 250ms とした。これにより、10Hz の測定は十分に可能であると考えられた。実際の DSC 内の細動脈は図のように観察され、



細動脈壁の内腔および細動脈壁を明確に区別できることが肉眼で明らかになる。酸素拡散係数は細動脈壁の中を酸素分子がどの程度の速さで運動することができるかによって計算から求めることができる。酸素分子が血管内から血管壁外に濃度勾配に従って移動するのであるが、そのスピードを知るためには細動脈壁の厚さと、その壁を通過するのにかかる時間を正確に知る必要がある。

本研究のために作成した顕微鏡システムを用いて、細動脈壁の内腔側および細動脈壁外側の酸素分圧をほぼ同時に連続的に計測することができるようになった。

動物に任意の時点で吸入気を純酸素に変更すると、動脈血の酸素分圧は急激に上昇を始める。そして細動脈内腔と細動脈壁外側での酸素分圧は変化する。



このグラフから細動脈を通るのにかった時間、細動脈内での酸素分圧の変化、細動脈壁外での酸素分圧の変化を計測することができる。

ここで、細動脈壁の酸素拡散係数を求めるに当たりいくつかの仮定を認める必要がある。まず、

1. 純酸素を吸入したのちに細動脈壁外に現れる酸素分圧の変化は細動脈壁内の酸素分圧の変動によってもたらされたものであること。(細動脈とは関係ない組織から拡散してきたものでないこと)

2. 拡散係数を測定する短時間(長くても 30 秒)の間に細動脈壁の酸素消費率が変化しないこと
3. 細動脈壁内(血液内)及び細動脈壁外の間質組織の酸素拡散係数は細動脈壁と比べ、十

分に高いこと。(細動脈壁は血液や間質よりも酸素を通しにくいと仮定できること)である。これらの仮定が許されるならば、下記の式によりK(細動脈壁の酸素拡散係数)を求めることができる。

$$(1) \quad K = D\alpha_t$$

$$(2) \quad D = \frac{(R_c + x)^2 - R_c^2}{4t}$$

$$(3) \quad \alpha_t = \frac{\Delta P_{out} (R_c + x)}{V_t \Delta P_{in} R_c}$$

ここで、Dは細動脈壁の酸素拡散係数、 α は細動脈壁の酸素溶解度、 x は細動脈壁の厚さ、 R_c は細動脈の内腔半径、 t は細動脈壁を酸素が通過するのにかかった時間、 ΔP_{out} は細動脈壁外側の組織酸素分圧の変化量、 ΔP_{in} は細動脈壁内側の組織酸素分圧の変化量を表している。

腫瘍は Balb/c マウスに発生する乳癌 (MMT060562, DSPharma, Osaka, Japan)を用いた。腫瘍は冷凍保存してあるものを3回継代培養し、細胞数 2×10^5 、個を左腋窩に移植し、大きさが1cmになるまで約7から10日間飼育した。事件の対象群はDSCを装着した群をControl 1群とし、左腋窩に生食0.3mlを皮下注射し、10日間経過したマウスをControl 2とした。担癌動物群は2群を作成した。小腫瘍群(Tumor1群)では腫瘍マウスより腫瘍を切り出し、直径1mm、厚さ1mmの腫瘍片を採取、DSC内の細動脈の近傍に移植した。腫瘍移植後2~3日経過してWindow内の腫瘍が2mmを超えた時点で細動脈の酸素拡散係数を計測した。大腫瘍群(Tumor2群)では腋窩に腫瘍細胞浮遊駅を移植し、腫瘍の大きさが10mm程度となった時点でWindowを設置し、さらに4日経過してウィンドウ内環境が落ち着いた時点で計測を行った。

人工酸素運搬体の効果

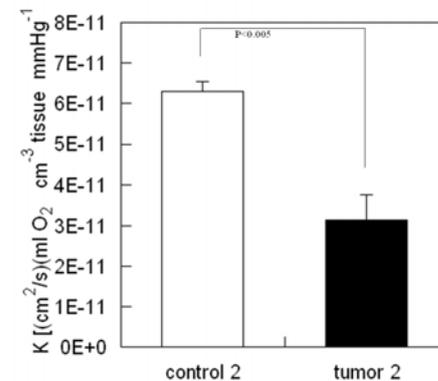
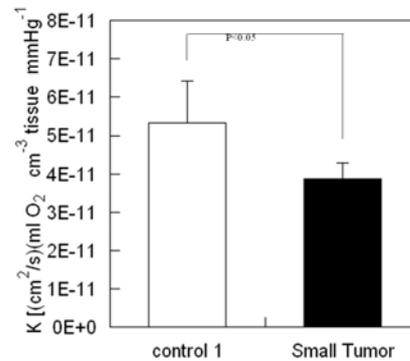
人工酸素運搬体は血漿相に分散し、赤血球が運搬する酸素に加えて通常の循環状態よりも多い酸素分子を組織へ運搬することができる。ヘモグロビン小胞体は高濃度のヘモグロビン溶液を脂質2重膜で被覆し、直径を260nmとした物質である。出血性ショックに用いて蘇生能力があり、酸素運搬により低酸素状況によってもたらされる嫌気解糖を抑制してアシドーシスを回避できることが報告されている (Sakai 2010, Horinouchi 2011)。担癌動物に投与した際の腫瘍の低酸素環境に与える影響についてはいまだに明らかとなっていない。

ヘモグロビン小胞体が微小循環に与える

影響については Sakai, Erni らの報告があり、Functional capillary densityには影響せず、皮弁内の低酸素環境を改善すると報告されている。この際の酸素運搬に細動脈がどのような働きをしているかを明らかとするためにDSC装着後4日目にHbVを循環血液量の20%静脈内投与を行って細動脈での酸素拡散係数の評価を行った。対照群としてはHb溶液(9.5g/dl in saline)を同量投与した。投与は約10分をかけて行い、投与後10分経過したのちに計測をはじめ、投与後1時間までに計測を終えた。これはHb溶液が経時的に速やかに血管外へ漏出することが知られているためである。

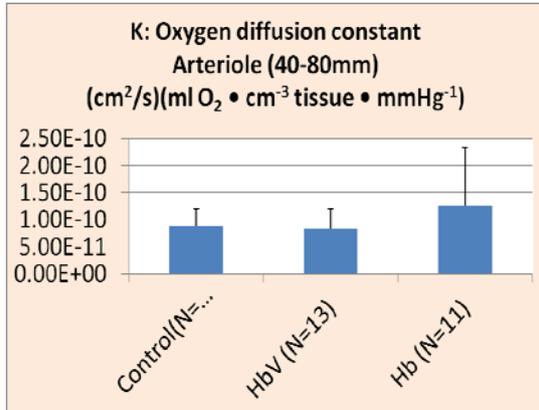
4. 研究成果

Control 1では細動脈壁の酸素拡散係数は $5.3 \pm 1.1 \times 10^{-11}$ [(cm²/s)(ml O₂ · cm⁻³ tissue · mmHg⁻¹)] (N=7)であり、小腫瘍群(Tumor1)では $3.9 \pm 0.4 \times 10^{-11}$ [(cm²/s)(ml O₂ · cm⁻³ tissue · mmHg⁻¹)] (N=5)であり、両者に有意差を認めた。また、Control 2群では $6.3 \pm 0.2 \times 10^{-11}$ [(cm²/s)(ml O₂ · cm⁻³ tissue · mmHg⁻¹)] (N=4)であったが、大腫瘍群(Tumor 2群)では $3.1 \pm 0.6 \times 10^{-11}$ [(cm²/s)(ml O₂ · cm⁻³ tissue · mmHg⁻¹)] (N=6)であった。Control 2群と大腫瘍群(Tumor2)の間にも有意差を認め、小腫瘍群と大腫瘍群の間にも有意差を認めた。



ヘモグロビン小胞体を投与した際の細動脈の

酸素拡散係数は対照群が $8.8 \pm 3.13 \times 10^{-11}$ [(cm²/s)(ml O₂ • cm⁻³ tissue • mmHg⁻¹)] であったのに対し、HbV 投与群では $8.45 \pm 3.51 \times 10^{-11}$ [(cm²/s)(ml O₂ • cm⁻³ tissue • mmHg⁻¹)], Hb 投与群では $12.53 \pm 10.85 \times 10^{-11}$ [(cm²/s)(ml O₂ • cm⁻³ tissue • mmHg⁻¹)]となり、いずれの群間にも有意差を認めなかった。



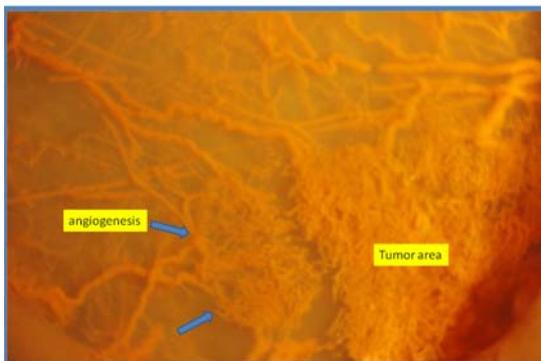
考察

腫瘍は恒常性を崩して自律性に増殖するが、腫瘍の必要とする酸素、栄養の供給と老廃物を除去する微小循環系の発達が未熟で、低酸素環境になっていることが明らかとなっている (Folkman ら、1987)。低酸素環境にある腫瘍細胞は放射線の感受性も低く、化学療法にも抵抗性であることが報告されており、腫瘍組織を酸素加することにより腫瘍の治療に対する反応性を上げようとする試みが数多く行われてきた。

われわれは人工酸素運搬体であるアルブミンヘムやヘモグロビン小胞体を用いて人工酸素運搬体を投与することによって照射の感受性を増強することを明らかとした。

しかし、腫瘍の酸素分圧上昇は長時間持続しないことも明らかとなった。腫瘍の酸素分圧を決定する機序の解明が必要と考え、腫瘍への酸素供給についての検討を開始した。

腫瘍循環は主として静脈系の新生血管が出現し、腫瘍の体積の増加とともに動脈系の血管の増生が起こってくる。これらの事実はシリコンラバーを注入して作成した血管樹からも明らかである。



DSC 内の腫瘍:腫瘍辺縁から新生血管が密に増生している。

しかし、これらの血管は静脈に流入し、動脈系の血管は明らかな増生は認められない。

そこで、微小循環における組織への酸素供給から検討を開始することとして、毛細血管における酸素運搬を明らかにしようと考えた。組織酸素分圧を図る方法は針電極による方法が一般的であり、DSC 下での測定もできるように 40 ミクロンの針電極も開発されていた (Intaglietta1994)。しかし、本研究ではより微小な環境で、低侵襲で経時的に組織酸素分圧を測定することが必須と考えられた。慶應義塾大学の南谷はレーザー光を用いて組織に浸透したパラジウムコプロポルフインを励起し、燐光の減衰より酸素分圧を測定する装置を開発していたので、この装置を導入し、レーザー光の直径を 23 ミクロンとして Q-switched Nd-YAG (532nm)を用いて、生体にほぼ侵襲を伴わず、連続して酸素分圧を測定することができるようになった。

まず、毛細血管での測定を試みたが、血管径が 5~10 ミクロンと狭く、生体での観察では呼吸や心拍により静止した状態での観測は困難であった。

生体内の Oxygen cascade を考えると、大動脈から細動脈を経て毛細血管に至る間にも酸素分圧は低下しており、この低下は伴奏する静脈系との間の Counter current theory に基づく低下であると考えられている。どの程度の酸素が動脈壁(細動脈壁)で拡散し消費されているかについては推定のみで明らかな議論がなされていなかった。

われわれは細動脈にターゲットを絞り、細動脈壁を酸素が拡散の様子を観察し、細動脈壁の酸素拡散係数および酸素消費率を求める方法を開発した。(Sasaki N. 2012 Keio Journal Med.)この方法を用いて腫瘍における細動脈の酸素拡散係数を測定し、腫瘍の低酸素環境形成機序を明らかにすることに成功した。

その結果は腫瘍がかなり小さくても(体重の 1/1000 以下でも)細動脈の酸素拡散係数は有意に低下しており、腫瘍が大きくなるとその低下は著しくなった。

この結果は、細動脈領域で酸素拡散が起きにくく、多くの酸素分子が毛細血管領域(腫瘍領域)に到達することを示している。

細動脈の壁の構成は血管内皮細胞、基底膜、平滑筋細胞、弾性膜、外膜、線維芽細胞と数多くの構成要素から成り立っている。この細胞、組織のどの因子が酸素拡散に影響を与えているかを今後明らかにしてゆかなければならないが、細動脈領域の酸素拡散を制御することによって、腫瘍へ到達する酸素を調節できる可能性が明らかとなった。

また、人工酸素運搬体を用いた腫瘍の酸素加が短時間で低酸素環境に戻ってしまうのかについても今後の検討が必要と思われた。

結論

担癌状態の動物の細動脈の酸素拡散係数を測定した。腫瘍の大きさに依存して酸素拡散係数が低下し、担癌状態の動物では細動脈領域での酸素拡散が抑制され、より多くの酸素が腫瘍近傍に到達していると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

1. Sasaki N, Horinouchi H, Ushiyama A, Minamitani H. A new method for measuring the oxygen diffusion constant and oxygen consumption rate of arteriolar walls. Keio J Med 2012 June (in press)
2. Seishi Y, Horinouchi H, Sakai H, Kobayashi K. Effect of the cellular-type artificial oxygen carrier Hb-vesicle as a resuscitative fluid for pre-hospital treatment: Experiments in a rat uncontrolled hemorrhagic shock model Shock (in press)
3. Sakai H, Sou K, Horinouchi H, Tsuchida E, Kobayashi K. Removal of cellular-type hemoglobin-based oxygen carrier (hemoglobin-vesicles) from blood using centrifugation and ultrafiltration. Artif Organs. 2012;36(2):202-9.
4. Nakajima J, Bessho M, Adachi T, Yamagishi T, Tokuno S, Horinouchi H, Ohsuzu F. Hemoglobin vesicle improves recovery of cardiac function after ischemia-reperfusion by attenuating oxidative stress in isolated rat hearts. J. Cardiovasc Pharmacol. 2011 Nov;58(5):528-34.
5. Yamanashi Y, Mori M, Terajima K, Tsueshita T, Horinouchi H, Sakai H, Sakamoto A. A transient inflammatory reaction in the lung after experimental hemorrhagic shock and resuscitation with a hemoglobin-vesicles solution compared with rat RBC transfusion. ASAIO J. 2009 Sep-Oct;55(5):478-83.
6. Taguchi K, Maruyama T, Iwao Y, Sakai H, Kobayashi K, Horinouchi H, Tsuchida E, Kai T, Otagiri M. Pharmacokinetics of single and repeated injection of hemoglobin-vesicles in hemorrhagic shock rat model. J Control Release. 2009;136:232-9.
7. Sakai H, Sou K, Horinouchi H, Kobayashi K, Tsuchida E. Review of hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers. Artif Organs. 2009 Feb;33(2):139-45.
8. Sakai H, Horinouchi H, Tsuchida E, Kobayashi K. Hemoglobin vesicles and red blood cells as carriers of carbon monoxide prior to oxygen for resuscitation after hemorrhagic shock in a rat model. Shock. 2009;31:507-14.
9. Sakai H, Okamoto M, Ikeda E, Horinouchi H, Kobayashi K, Tsuchida E. Histopathological changes of rat brain after direct injection of

Hb-vesicles (artificial oxygen carriers) and neurological impact in an intracerebral hemorrhage model. J Biomed Mater Res A. 2009;90:1107-19.

[学会発表] (計4件)

1. Horinouchi H, Sasaki N, Seishi Y, Kobayashi K, Sakai H. Influence of Hemoglobin vesicle on oxygen diffusion constant of arteriolar wall in microcirculation of mouse dorsal skin window chamber. XIII ISBS 2011 July 28 Boston, MA USA
2. Seishi Y, Horinouchi H, Sakai H, Kobayashi K. Fluid resuscitation using large volume of hemoglobin vesicle in rat continuous hemorrhage model (2nd report). XIII ISBS 2011 July 28 Boston, MA USA
3. Horinouchi H, Seishi Y, Kobayashi K, Izumi Y, Kohno M, Sakai H, Tsuchida E. Resuscitation with Hemoglobin-Vesicle can improve survival and oxygen metabolism in uncontrolled hemorrhage model in rats. Hemorrhage from large vessel model XII ISBS 2009 August 26, Parma, Italy
4. Seishi Y, Horinouchi H, Sakai H, Tsuchida E, Kobayashi K. Effect of large volume resuscitation with the cellular type artificial oxygen carrier (Hb-vesicle) in rat model of uncontrolled hemorrhagic shock via caudal artery. XII ISBS 2009 August 26, Parma, Italy

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他] 無

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀之内 宏久 (HORINOUCHI HIROHISA)
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号：60173647

(2) 研究分担者

塚田 孝祐 (TSUKADA KOSUKE)
慶應義塾大学・理工学部・講師
研究者番号：00351883

河野 光智 (KOHNO MITSUTOMO)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：10276272

(3) 連携研究者

無し