

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2011～2015

課題番号：23221005

研究課題名(和文) 遺伝子破壊細胞を使った、化学物質の生物効果をハイスループットに解析するシステム

研究課題名(英文) Establishment of high-throughput screening of toxic chemical compounds.

研究代表者

武田 俊一 (Takeda, Shunichi)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60188191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 165,300,000円

研究成果の概要(和文)：変異原性化学物質をハイスループットに検出するバイオアッセイを、ニワトリDT40細胞由来のゲノム編集細胞(DNA損傷修復遺伝子の欠損細胞)を使って創った。開発した試験の妥当性を、米国National Toxicology Program (NTP) の化学物質ライブラリー(約10,000種類)を解析した。感度および特異性ともに高いことが示された。

上記の変異原性試験は、ニワトリ細胞を使っていることを問題点として指摘された。そこでCRISPR/Cas9手法を使い、OECD諸国政府が変異原性化学物質検出に使う標準ヒト細胞株(TK6)をゲノム編集し、DNA損傷修復遺伝子の欠損細胞を創った。

研究成果の概要(英文)：Isogenic chicken DT40 B-lymphocyte cell lines deficient in DNA repair pathways can be used to identify genotoxic compounds. As part of the US Tox21 program, we optimised several different DT40 isogenic clones on a high-throughput screening platform and confirmed the utility of this approach for detecting genotoxicants by measuring differential cytotoxicity in wild-type and DNA repair-deficient clones following chemical exposure. We then screened the Tox21 10K golden-standard chemical compound library, and demonstrate the utility of this chemical-genetic approach for identifying and prioritising compounds that may damage DNA.

To improve the bioassay of detecting genotoxicants, we established a method of disrupting genes in the human TK6 B cell line, a standard cell line for identifying genotoxicants by OECD countries. We have already generated ~20 TK6 mutants deficient in various DNA-repair-genes.

研究分野：分子生物学

キーワード：有害化学物質 化審法 遺伝毒物学 発がん物質 変異原 小核実験 ハイスループットスクリーニング
グ レギュラトリーサイエンス

1. 研究開始当初の背景

(1) 有害化学物質の規制

化審法で採用されている発がん性(変異原性)化学物質の検出手法(バイオアッセイ)は、偽陽性と偽陰性が多い。この問題に対応するために、米国政府は、National Toxicology Program (NTP) が中心になって Toxicology 21 program を開始した。そして、発がん性化学物質を含めて、様々な有害化学物質を検出する新規のバイオアッセイを公募した。我々が提案した複数種類のバイオアッセイは、NTP によって採用され、その妥当性が、National Institutes of Health (NIH) の附属機関、National Center for Advancing Translational Sciences において検証されている。この検証にはゴールドスタンダードケミカルライブラリーを必要とするが、そのライブラリーは米国政府しか所有していない。ゆえに、有害化学物質を検出するバイオアッセイの開発には、米国政府は、(NTP) と共同研究する必要がある。

(2) 遺伝子破壊細胞を使った、化学物質の生物効果の判定手法

化審法で採用されているバイオアッセイは、野生型(正常)細胞・動物を使って、有害化学物質を同定する。バイオアッセイには、偽陽性と偽陰性がある。臨床検査のように、多くのユーザー(医師)がいる場合には、どのような時に偽陽性や偽陰性がおこるかを解明できる。しかし、化審法で採用されているバイオアッセイでは、偽陽性や偽陰性を検定しようがない。では、バイオアッセイの感度や特異性をどのように高めていけば良いだろうか？

我々の提案は、遺伝子破壊細胞(動物)を使うことである。仮に、ある化学物質に細胞を曝露したときに、DNA 損傷修復酵素の1つが欠損した細胞の方が親株(正常細胞)よりも細胞増殖速度が低下したとしよう。この実験結果から化学物質の毒性にはDNA 損傷修復酵素の機能が関係していると結論でき、その毒性は化学物質のDNA 毒性(変異原性)と推定できる。

この遺伝学的解析手法は、野生型(正常)細胞・動物のみを解析する従来の手法に比べて、以下のメリットをもっている。

DNA 損傷修復酵素欠損細胞の方が、正常細胞よりもDNA 毒性をより高感度に検出できる(偽陰性が少ない)のは自明である。DNA 損傷修復酵素欠損細胞の実験データを評価するときに、正常細胞を陰性対照に使えるので、偽陽性を除外できる。細胞増殖速度を測定する等、ハイスループット解析に向く評価方法を使える。

2. 研究の目的

- (1) 遺伝子破壊株(ニワトリ DT40 細胞)を使った変異原性検出試験の開発
化学物質の発がん性(= 変異原性)をハイ

- スループットに検出する手法を遺伝子破壊株(ニワトリ DT40 細胞)を使って、化学物質の発がん性(= 変異原性)をハイスループットに検出する手法を開発
- (2) 米国 NIH と共同研究して、(1)の手法の妥当性を検証。
- (3) ヒト細胞を使い、化学物質の発がん性をハイスループットに検出する手法を開発
- (4) 新規の変異原性メカニズムを発見
- (5) 小胞体ストレス応答を起こす化学物質を検出するバイオアッセイを構築。

3. 研究の方法

- (1) 化学物質に曝露した時の細胞増殖速度を測定。DNA 損傷修復欠損細胞が野生型より増殖が遅ければ、発がん性陽性と判定。この手法は、増殖速度を調べるだけで発がん性が検出できるので、ハイスループット検出にも応用できる。
- (2) 上記の手法でゴールドスタンダードケミカルライブラリー(10,000 種類、10K ライブラリーと呼ぶ)を解析
- (3) OECD 政府が変異原性試験に使う標準細胞株、ヒト TK6 B 細胞株においてDNA 修復酵素の遺伝子破壊を行う。その手法を開発。
- (4) (2)や文献データにおいて予想外の結果が出たときに、その原因を追求する。
- (5) ストレス応答に關する転写制御領域(UPRE)をマーカー遺伝子(蛍光タンパク)に連結し、細胞に導入。

4. 研究成果

- (1) 大学院生(山本)を1年間 NIH に派遣し、ハイスループット検出手法を最適化した(21.Yamamoto KN. Et al., 2011)。韓国ソウル大学(Choi 教授)がニワトリ DT40 細胞)を使った発がん性検出試験を使い、環境中の物質の発がん性を実際に証明した(18.と 19.Ji K. et al., 2011 の2件の論文)。
- (2) ハイスループット検出手法を使い、10K ライブラリーを実際に解析した。その結果、これまで発がん性が知られていなかった化学物質の発がん性を証明できた(3.Nishihara K. et al., 2016)。我々が実施した3種類の解析も含めて、全部で72種類の10K ライブラリー解析結果が論文発表された(*Nature Communications* 2016, PMID: 26811972)。我々が提案した変異原性検出試験は、再現性の高い優れたバイオアッセイと評価された。
米国 NIH において約2,000種類の化合物をハイスループット検出した生データを複数種類の統計学的手法を使って解析した。その結果、NIH が使う手法に加えて別の統計手法をも使うことにより、変異原性検出がより高感度にできることを示した(13. Fujii, Y. et al., 2014)。
- (3) 2012 年に新規ゲノム編集方法(CRISPR/Cas9)が開発され、それまで不

可能だったヒト細胞株でのゲノム編集(例、条件変異、点変異ノックイン)が可能になった。そこで、ヒトTK6細胞株を使い、上記(1)の研究目的を達成すること、DT40からTK6にモデル細胞株を変更することを決定した。TK6は、先進国(OECD諸国政府)が変異原性化学物質検出に使う標準ヒト細胞株である。最終的にゲノム編集手法を最適化した。既に20種類のDNA損傷修復酵素の遺伝子破壊TK6細胞を創った。これらの細胞を使い研究室から論文発表した(6.Keka IS. Et al., 2015; 1,7.Hoa NN. et al., 2015)。

Smarcal1の機能解析

6.の論文では、Smarcal1と呼ばれるDNAヘリカーゼが2重鎖切断修復(nonhomologous end-joining)を促進することを証明した。この証明により、Smarcal1遺伝子が変異するとなぜ免疫不全になるか(抗原受容体遺伝子の作成効率が低下)が解明できた。

Mre11の機能解析

1., 7.の論文では、相同組換えによる2重鎖切断修復を開始する機構を解明した。相同組換えは、2重鎖切断端をDNA切断酵素で削り3'1重鎖DNAを作ることによって開始される。切断端に3'1重鎖DNAを作る既知DNA切断酵素の遺伝子破壊細胞を系統的に作製した。その表現型を定量比較した結果、以下の3点を解明した:(i) Mre11とExo1 DNA切断酵素の役割は限定されている、(ii) CtIPとDNA2が決定的に重要、(iii) CtIPはシャペロンとして機能しDNA2を2重鎖切断端にリクルートする。

(4) 新規の変異原性メカニズムを発見

抗がん治療薬、PARP酵素阻害剤は、細胞に強い毒性を示すにもかかわらず、PARP酵素遺伝子を欠失した細胞は正常に増殖できる。すなわちPARP酵素阻害剤の細胞毒性は、PARP酵素の阻害だけでは説明しきれなかった。この原因追及を米国NIHの研究者に提案しPARP酵素遺伝子欠失細胞を米国に提供した。その結果、PARP酵素阻害剤の新規作用機序を解明できた(16.Murai, J. et al., 2012)。具体的には、抗がん治療効果の高いPARP酵素阻害剤は、PARP酵素を損傷部位からはずれなくすることによって、他のDNA損傷修復酵素が損傷部位に近づけなくするのである。

我々は、XRCC1がPARP酵素を損傷部位からはずす作用があることを見出した。現在、論文投稿を準備している。

ヒトにおける鋳型鎖スイッチの証明

複製ポリメラーゼは、塩基損傷した鋳型鎖を使ってDNA合成ができない。そのため、複製ポリメラーゼは損傷塩基部位で複製を停止する(図1)。複製停止は、2種類の機序で解除されることが酵母の実験系で解明されている。1つめは、鋳型鎖スイッチである(図1,左下)。2つめは、代わり

のDNAポリメラーゼ(損傷乗越えDNAポリメラーゼ)が損傷部位を鋳型にDNA合成する経路である(図1,右下)。この損傷乗越えが点変異の最も重要なメカニズムである。

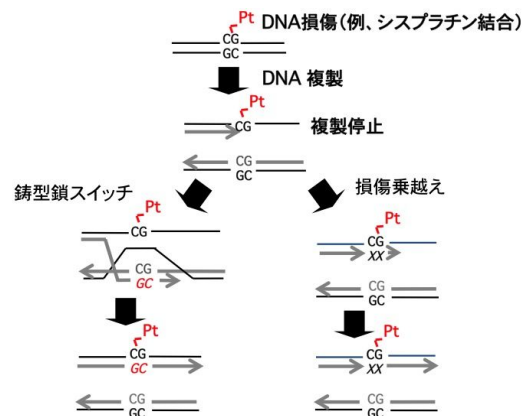


図1 損傷塩基の部分で停止したDNA複製を再度、DNA合成再開する経路:鋳型鎖スイッチと損傷乗越え

我々は、PIAS1,PIAS4と呼ばれるスモ化酵素がPCNA(複製ポリメラーゼがDNAから外れないようにする留め金タンパク)をスモ化することによって鋳型鎖スイッチを促進することを見出し、論文投稿を準備している。表1のイタリック部分が我々の新知見である。

表1 PCNA修飾の機能の比較

| PCNA修飾 | 出芽酵母 | 脊椎動物 |
|----------|-----------|------------------|
| モノユビキチン化 | 損傷乗越え促進 | 損傷乗越え促進 |
| ポリユビキチン化 | 鋳型鎖スイッチ促進 | <i>損傷乗越え促進</i> |
| スモ化 | DNA組換え抑制 | <i>鋳型鎖スイッチ促進</i> |

DNA複製中の変異導入メカニズム

我々は、複製ポリメラーゼそのものが損傷乗越えしうることを発見した(8.Hirota, K. et al., 2015; 2016年にNucleic Acid Res.に続報)。この発見は従来の学説を覆すものである。複製ポリメラーゼは、損傷乗越えすることによって、不正確な損傷乗越えDNAポリメラーゼの利用を最小限に止め、DNA複製中の変異導入を防止していると推定している。複製ポリメラーゼが複製停止後にリン酸化などによって損傷乗越え能を獲得する可能性を、現在解析中である。

損傷乗越えの制御メカニズム

制御メカニズムは、遺伝学的解析が容易な真核細胞、出芽酵母で研究が進んだ。出芽酵母では、Rad18ユビキチン化酵素がPCNAをユビキチン化することによって開始される。我々は、Rad18以外に、Ubc13

(表 1、PCNA ポリユビキチン化酵素) RNF8、HERC2 と呼ばれるユビキチン化酵素も損傷乗越えを促進することを解明した(2. Mohiuddin et al., 2016)。RNF8、HERC2 の基質は、PCNA 以外ということしか解明できなかった。

ユビキチン化酵素による 2 重鎖切断修復制御機構

ユビキチン化酵素、Rad18 と RNF8 は、損傷乗越えのみならず 2 重鎖切断修復を促進する。先行論文によれば、両者は、ユビキチン化酵素として 2 重鎖切断修復を促進するだけでなく、酵素触媒活性以外の機能でも促進する。我々は、酵素触媒活性以外の機能を検証するために、Rad18 と RNF8 の活性中心に点変異を入れ、触媒活性が無い Rad18 と RNF8 を発現した細胞を創った。その結果、酵素触媒活性以外の機能でも、Rad18 と RNF8 は 2 重鎖切断修復を促進することを明らかにした。

- (5) 米国 NIH にて、小胞体ストレスを検出する感度を解析した。In vitro (企業) が開発したバイオアッセイと比べて感度が同程度(化学物質の種類によってはより高感度に検出可)であることが判った。米国 NIH から論文投稿中である(共著者: 武田、森、岡田)。

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 72 件) 全て査読あり

H27 (14 件)

1. Hoa NN, Takeda S, Sasanuma H. et al. (総数 14 名, 13, 14 番目) (2015) Relative contribution of four nucleases, CtIP, Dna2, Exo1 and Mre11, to the initial step of DNA double-strand break repair by homologous recombination in both the chicken DT40 and human TK6 cell lines. Genes Cells. 2015 Dec;20(12):1059-76. doi: 10.1111/gtc.12310.
2. Mohiuddin, Sasanuma H, Takeda S, et al. (総数 14 名, 10, 14 番目) (2016) The role of HERC2 and RNF8 ubiquitin E3 ligases in the promotion of translesion DNA synthesis in the chicken DT40 cell line. DNA Repair (Amst). 40: 67-76. doi: 10.1016/j.dnarep.2016.02.002.
3. Nishihara K, Takeda S, Xia M, et al. (総数 9 名, 8 番目) (2016) Identification of genotoxic compounds using isogenic DNA repair deficient DT40 cell lines on a quantitative high throughput screening platform. Mutagenesis 31 (1): 69-81.

doi: 10.1093/mutage/gev055.

4. Ninagawa S, Okada T, Takeda S, Mori K, et al. (総数 12 名, 2, 7 番目) (2015) Forcible destruction of severely misfolded mammalian glycoproteins by the non-glycoprotein ERAD pathway. J Cell Biol. 211 (4): 775-84. doi: 10.1083/jcb.201504109.
5. Shimizu N, Ooka M, Takagi T, Takeda S, Hirota K. (2015) Distinct DNA Damage Spectra Induced by Ionizing Radiation in Normoxic and Hypoxic Cells. Radiat Res. 184 (4): 442-8. doi: 10.1667/RR14117.1.
6. Keka IS, Takeda S, Sasanuma H, et al. (総数 9 名, 8, 9 番目) (2015) Smarcal1 promotes double-strand-break repair by nonhomologous end-joining. Nucleic Acids Res. 43 (13): 6359-72. doi: 10.1093/nar/gkv621.

H26 (16 件)

7. Hoa NN, Takeda S, Sasanuma H, et al. (総数 9 名, 8, 9 番目) (2015) BRCA1 and CtIP Are Both Required to Recruit Dna2 at Double-Strand Breaks in Homologous Recombination. PLoS One. 10 (4): e0124495. doi: 10.1371/journal.pone.0124495.
8. Hirota K, Takeda S, et al. (総数 16 名, 1, 16 番目) (2015) The POLD3 subunit of DNA polymerase can promote translesion synthesis independently of DNA polymerase . Nucleic Acids Res. 43 (3): 1671-83. doi: 10.1093/nar/gkv023.
9. Kobayashi S, Takeda S, Hirota K, et al. (総数 9 名, 8, 9 番目) (2015) Rad18 and Rnf8 facilitate homologous recombination by two distinct mechanisms, promoting Rad51 focus formation and suppressing the toxic effect of nonhomologous end-joining. Oncogene 34: 4403-11. doi:10.1038/onc.2014.371.
10. Kobayashi K, Hirota K, et al. (総数 5 名, 5 番目) (2015) PLoS One 10 (3): e0122006. doi: 10.1371/journal.pone.0122006.

H25 (15 件)

11. Al Abo M, Hirota K, Takeda S, et al. (総数 7 名, 1, 3, 7 番目). (2014) Compensatory functions and interdependency of the DNA-binding domain of BRCA2 with the BRCA1-PALB2-BRCA2 complex. Cancer Res. 74 (3): 797-807. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1443.
12. Mohiuddin, Hirota K, Takeda S, Hirano

- S, et al. (総数 8 名, 4, 7 番目) (2014) A novel genotoxicity assay of carbon nanotubes using functional macrophage receptor with collagenous structure (MARCO)-expressing chicken B lymphocytes. *Arch Toxicol.* 88 (1): 145-60.
doi: 10.1007/s00204-013-1084-7.
13. Fujii Y, Narita T, Tice RR, Takeda S, Yamada R. (2014) Isotonic regression-based method in quantitative high-throughput screenings for genotoxicity. *Dose Response* 1 (1): 1-20.
doi: 10.2203/dose-response. 13-045.
Fujii
- H24 (11 件)
14. Kikuchi K, Hirota K, Takeda S, et al. (総数 17 名, 5, 17 番目) (2013) Structure-specific endonucleases xpf and mus81 play overlapping but essential roles in DNA repair by homologous recombination. *Cancer Res.* 73 (14): 4362-71.
doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3154.
15. Fujita M, Sasanuma H, Takeda S, Hirota K, et al. (総数 10 名, 2, 9, 10 番目) (2013) Interference in DNA replication can cause mitotic chromosomal breakage unassociated with double-strand breaks. *PLoS One.* 8 (4): e60043.
doi: 10.1371/journal.pone.0060043.
16. Murai J, Takeda S, Pommier Y, et al. (総数 9 名, 8 番目) (2012) Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors. *Cancer Res.* 72 (21): 5588-99.
doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2753.
- H23 (16 件)
17. Moldovan GL, Takeda S, D'Andrea AD, et al. (総数 7 名, 5 番目) (2012) Inhibition of homologous recombination by the PCNA-interacting protein PARI. *Mol Cell* 45 (1): 75-86.
doi: 10.1371/journal.pgen.1002455.
18. Ji K, Choi K, Giesy JP, Musarrat J, Takeda S. (2011) Genotoxicity of Several Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Hydroxylated PBDEs, and Their Mechanisms of Toxicity. *Environ Sci Technol.* 45 (11): 5003-8
doi: 10.1038/ng.2231.
19. Ji K, Takeda S, Choi K, et al. (総数 14 名, 12 番目) (2011) Genotoxicity and endocrine-disruption potentials of sediment near an oil spill site:

two years after the Hebei Spirit oil spill. *Environ Sci Technol.* 45 (17): 7481-8.
doi: 10.1021/es200724x.

20. Qing Y, Takeda S, et al. (総数 9 名, 9 番目) (2011) The epistatic relationship between BRCA2 and the other RAD51 mediators in homologous recombination. *PLoS Genet.* 7 (7): e1002148.
doi: 10.1371/journal.pgen.1002148.
21. Yamamoto KN, Takeda S, Tice RR. (2011) (総数 10 名, 4 番目) Characterization of environmental chemicals with potential for DNA damage using isogenic DNA repair-deficient chicken DT40 cell lines. *Environ Mol Mutagen.* 52 (7): 547-61.

〔学会発表〕(計 71 件)

H27 (22 件)

1. Takeda S. “Genetic Analysis of Proteins Involved in the Initial Step of Double-strand Break Repair” International Congress of Radiation Research, 2015 年 5 月 25-29 日, 京都国際会館(京都府京都市).
2. Takeda S. “Differential roles of Mrell nuclease in DNA damage responses in the budding yeast and mammalian cells” CGI International Symposium, 2015 年 5 月 27-30 日, ウルサン(韓国).
3. 武田俊一. “抗がん剤の作用機序を遺伝学的手法を使って調べる”, 天理よろづ相談所 学術講演会, 2015 年 6 月 19 日, 天理よろづ相談所 医学研究所(奈良県・天理市)
4. Hirota K, Tsuda M, Mohiuddin, Tsurimoto T, Liven Z, Iwai S, Sale J, Takeda S. “Capability of proofreading- exonuclease- deficient replicative DNA polymerase δ to perform translesion DNA synthesis” 日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 1-4 日, 神戸ポートアイランド(兵庫県・神戸市).

H26 (15 件)

5. 武田俊一, 笹沼博之. “Collaboration of BRCA1, CtIP, and Dna2 is required to initiate double-strand break repair by homologous recombination.” 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 25-27 日, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市).

H25 (14 件)

6. Hirota K. “染色体断裂はいつも DNA2

重鎖切断が原因とは限らない” 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 3 日-5 日, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)。

H24 (12 件)

7. 武田俊一. “ 遺伝学的手法を応用した、新規抗がん剤のスクリーニングとその作用機序の解析 ” 金沢大学薬学シンポジウム 2012 -DNA 損傷応答を標的とした革新的がん創薬研究-, 2013 年 2 月 19 日, 金沢大学 (石川県・金沢市)。
8. Hitora K. “ SUMO-targetted Ubiquitin Ligase RNF4 Guards Genome Stability by suppressing error-prone Homologous Recombination. ” 第 35 回日本分子生物学会, 2012 年 12 月 14 日-16 日, 福岡国際会議場 (福岡県・博多市)。
9. 蜷川暁. “ ERAD 因子 EDEMs は、小胞体におけるメジャーなマンノシダーゼである ~ ニワトリ DT40 細胞を用いた EDEM1/2/3 トリプル KO 細胞の解析 ~ ” 第 12 回日本蛋白質科学会年会, 2012 年 6 月 20 日-22 日, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)。

H23 (8 件)

10. Takeda S. “ Genetic models for DNA repair and cancer. ” Tenth CMC Winter Symposium, Cellular and Molecular Medicine, Cancer, Stem Cells & Inflammation, 2012 年 1 月 6 日, ヴェロール (インド)。
11. Takeda S. “ Mutants deficient in DNA repair pathways provide high throughput assays for genotoxicity of chemicals and contribute to development of in silico methods for predicting genotoxicity of chemicals from their structure. ” International Scientific Conference, Regenerative Medicine and Healthy Aging, 2011 年 11 月 11 日, アスタナ (カザフスタン)。

〔図書〕(計 3 件)

H27 (2 件)

1. 廣田耕志, 武田俊一, 医歯薬出版, 医学のあゆみ DNA 損傷修復の概念提起からメカニズム解明へ, 2015, 5 ページ。
2. 浅田隆大, 廣田耕志, 羊土社, 実験医学増刊 酵母 SRG1, mI onRNA による遺伝子発現制御, 2015, 2 ページ。

H26、H25 なし

H24 (1 件)

3. 笹沼博之, 科学評論社, 月刊血液内科血液内科領域における抗腫瘍薬の作用機序・副作用に基づく使い分け シスプ

ラチン耐性の分子機構, 2012, 6 ページ。

H23 なし

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

- ・ DNA が切れていないのに発生する染色体断裂の発見 - ヒトの被曝線量を測定する手法に異議あり -
http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news6/2013/130404_1.htm
- ・ 京都大学大学院 理学研究科 森研究室
<http://www.upr.biophys.kyoto-u.ac.jp/research/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武田 俊一 (TAKEDA, Shunichi)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 60188191

(2) 研究分担者

廣田 耕志 (HIROTA, Kouji)
首都大学東京・大学院理工学研究科・教授
研究者番号: 00342840

(3) 研究分担者

山田 亮 (YAMADA, Ryo)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 50301106

(4) 研究分担者

岡田 徹也 (OKADA, Tetsuya)
京都大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号: 70378529

(5) 研究分担者

笹沼 博之 (SASANUMA, Hiroyuki)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 00531691

(6) 連携研究者

清水 宏泰 (SHIMIZU, Hiroyasu)
大阪医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 60340551
(2014 年 8 月 31 日退職)

(7) 連携研究者

高橋 良輔 (TAKAHASHI, Ryosuke)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 90216771