

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23390048

研究課題名(和文)光と栄養による行動・代謝連環の日周リズム制御

研究課題名(英文)Regulation of daily rhythms for behavior-metabolism links by light and nutrition

研究代表者

灌口 正樹(Takiguchi, Masaki)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40179578

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,100,000円

研究成果の概要(和文)：マウスは昼夜サイクルの暗期に活動・摂食し、明期に休眠・絶食する。通常、絶食期後半にはグルコースが不足し糖新生系酵素遺伝子が活性化されるが、このリズムは栄養条件により変動する。今回、この変動に伴うコルチコステロン、グルカゴン、インスリン等の液性因子の変化を長期絶食、高脂肪食、炭水化物/タンパク質比各種食条件下において明らかにした。また、恒明条件下での概日行動リズム周期の延長を示した遺伝子標的破壊マウスは、暗期後半の光パルス照射による行動開始位相前進が亢進傾向を示し、また暗期始点6時間前方変位後の行動開始位相の再同調に要する日数に短縮傾向を示し、日周行動リズムの光刺激応答性の亢進が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the day/night cycle, mice act and eat during the dark period, while rest and fast during the light period. Under general conditions, lack of glucose activates gluconeogenic enzyme genes in the latter half of the fasting period. However, depending on nutritional conditions, this rhythmicity suffers from fluctuations. Here, we revealed the fluctuation-associated changes in humoral factors including corticosterone, glucagon and insulin under the conditions of prolonged fasting, high-fat diet and carbohydrate/protein-ratio varied chows. A gene-disrupted mouse strain with a prolonged circadian behavioral rhythm under constant lightness showed an enhancing tendency in phase advancement of behavioral initiation by light pulse in the latter half of the dark period, and a shortening tendency in days required for resynchronization of the behavioral initiation phase after 6-h advancement of the dark period, suggesting the enhancement of light responsiveness of the daily behavioral rhythm.

研究分野：時間生物学

キーワード：生物時計 概日リズム 糖新生 神経ペプチド

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の行動と代謝は相互に密接に連環する。摂食には多大な行動を必要とし、一方、摂食とそれに続く代謝は行動のために必須である。行動と代謝の連環は複雑であり、例えば、摂食直後に行動は抑制され、続いて摂食を伴わない行動を経て、空腹時に再び摂食のための行動に移る。また、行動・代謝連環は、大枠として、概日性、日周性の制御を受ける。睡眠時には行動が停止し、長時間の絶食状態となり代謝はそれに順応する。概日(約1日の意)リズムは、時計遺伝子の自己抑制ループに基づく自律性の生物時計によって発振され、地球の自転に由来する外部環境リズムに同調して24時間の日周リズムを生む。最も強力な同調因子は光(明暗サイクル)と栄養(摂食/絶食サイクル)である。研究開始に先立つ10年余りの間に、概日リズム、日周リズムの発振機構の理解は飛躍的に進んだのに対し、生物時計の出力である各種生理機能のリズム形成機構の解明は遅れていた。

マウスは明暗(昼夜)サイクルの暗期に活動・摂食し、明期に休眠・絶食する。我々は、まず、マウス肝臓において摂食に応答したリズム変動が最も顕著である脂肪合成系に着目し、その制御因子である *Srebp-1* 遺伝子の発現リズムが、明暗サイクルの中の特定の摂食時間帯と食物の3大栄養素組成の著しい影響を受けることを示した。すなわち、脂肪合成の日周リズム形成の核心となる環境要因が光と栄養であることを明らかにした。一方、我々は従来から肝臓のアミノ酸代謝系・アンモニア解毒系であるオルニチンサイクル酵素遺伝子群の転写調節機構の研究を行い、オルニチンサイクル酵素の mRNA レベルが、高炭水化物食(無タンパク質食)では夜行性マウスの明期絶食期から暗期摂食期の移行期にかけて上昇するのに対し、高タンパク質食では暗期摂食期に上昇することを明らかにした。すなわち、オルニチンサイクル酵素遺伝子群の発現は、食餌栄養素に応答して異なる日周リズムを示すという極めて興味深い特性が明らかになった。

この発見を敷衍し、さらに、糖新生系酵素遺伝子は、本来絶食期に活性化されるが、高タンパク質食条件下ではグルコースの不足を補うため暗期摂食期にも活性化される可能性に思い至った。通常、摂食期に吸収された余剰なグルコースは肝臓にグリコーゲンとして蓄積され、絶食期に分解されてグルコースの供給源となる。さらに、グリコーゲンが枯渇する絶食期後半に至って、アミノ酸等を原料としてグルコースを合成する糖新生系が活性化される。従って、通常、糖新生にはこのような顕著な日周リズムが見られる。さらに、飢餓や食餌栄養素の変化は、この日周リズムを大きく変化させる。糖新生の主要な調節点は同系酵素遺伝子の転写段階にある。その制御にはホルモンが中心的役割を演じ、

グルカゴン、コルチコステロンにより活性化され、インスリンにより抑制されることが知られている。しかし、糖新生系酵素遺伝子の日周性発現リズム形成におけるこれらのホルモン制御の役割に関する知見は限られている。

他方、我々は神経可塑性に関与する遺伝子への関心から、独自に開発した微量 mRNA 増幅法を応用したマイクロアレイ解析を行い、マウス初代培養神経細胞において cAMP と Ca^{2+} によって最も強く活性化される遺伝子としてセクレトグラニン II 遺伝子 (*Scg2*) を同定した。続いて、同遺伝子のノックアウト (KO) マウスを作成したところ、偶然にも、同マウスが概日リズム、日周リズムの変異を示すことを明らかにした。すなわち、*Scg2* KO マウスは(1)恒明条件下で、26.1時間周期の概日行動リズムを示した(対照マウスは25.3時間周期);(2)暗期後期の光パルス照射により、対照マウスに比べ、行動リズム位相がより前進するとの予備的知見を得た;(3)一部の *Scg2* KO マウスは昼行性を示した。このような *Scg2* KO マウスにおける行動リズム変異の生成機構に関心が持たれた。

2. 研究の目的

動物生理の核心的事象である行動・代謝連環の日周リズム形成機構は時間生物学における最重要問題の一つであり、我々の究極の研究課題である。その一環として、本研究では、生物時計の最も重要な同調因子である光と栄養がいかに行動と代謝の日周リズムを制御するかを明らかにすることを目的とした。本研究では、各種食餌条件下の肝臓における糖新生系酵素遺伝子 mRNA レベルと血漿ホルモン等の液性因子レベルの変化を調べ、同遺伝子発現の日周性制御機構の解析を行った。また、*Scg2* KO マウスで見られる恒明条件下での概日行動リズム周期の延長が、光応答性の亢進に起因するとの仮説の検証を進めた。

3. 研究の方法

(1) マウスの飼育条件

マウスの飼育と実験は、千葉大学動物実験実施規程に準拠して行った。6週齢オス C57BL/6 マウスは日本クレアから購入した。同マウスを12時間:12時間の明暗サイクル[点灯時を Zeitgeber time (ZT) 0時、消灯時を ZT12時と称する]、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、通常食自由摂食下にて少なくとも2週間飼育した後、種々の飼料を1週間与えた。各飼料の3大栄養素の重量含有比は以下の通りであった:通常食 CE-2(クレア),55%炭水化物,5%脂肪,28%タンパク質;高脂肪食 High Fat Diet 32(クレア),31%炭水化物,34%脂肪,27%タンパク質;高炭水化物(無タンパク質)食,81%炭水化物(スターチ,スクロース),6%脂肪,0%タンパク質;低タンパク質食,56%炭水化物,6%脂肪,15%カゼインまたは大豆タンパク質;

高タンパク質食, 21%炭水化物, 6%脂肪, 60%カゼインまたは大豆タンパク質。ZT3, 7, 11, 15, 19, 23 時に各時 3 以上のマウスから肝臓と全血を採取した。

(2) RNA プロット解析

マウス肝臓から全 RNA を酸-グアニジンチオシアネート-フェノール/クロロホルム法または TRIzol 試薬 (Invitrogen) を用いて調製した。RNA を, ホルムアルデヒド変性アガロース (1%) ゲルで電気泳動し, ナイロンメンブレンにプロットした。ジゴキシゲニン標識 RNA プロブは, 各 cDNA クローンを鋳型として試験管内転写キット (Roche) を用いて合成した。ハイブリダイゼーション, 洗浄, 化学発光検出は, Roche 推奨のプロトコールに準拠した。検出・定量は, CS Analyzer ver 3.0 (アトー) を用いて行った。

(3) 血液化学解析

マウス腹部大静脈から全血を EDTA 処理した針シリンジを用いて採取し, 1/100 容の 1.3% アプロチニン (Roche) を添加した。グルコース濃度をグルコースデヒドロゲナーゼ/電極法に基く測定装置 Advantage II (Roche) を用いて測定した。遠心分離した血漿のコルチコステロン濃度を ELISA キット EC3001-1 (Assaypro) を用いて, また, グレリン, グルカゴン, グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1), グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド (GIP), インスリン, レプチン, プラスミノゲン活性化抑制因子-1 (PAI-1), レジスチンなどのペプチド濃度を抗体ビーズサスペンションアレイキット Bio-Plex Pro Mouse Diabetes 8-plex Assay (171-F7001M, Bio-Rad) を用いて測定した。

(4) 行動リズム解析

マウス飼育ケージの上方に装着した熱放射感知式運動検出装置 NS-As01 (ニューロサイエンス) により行動量を連続的にモニターし, 1 分毎にコンピューターに記録した。リズム性を ClockLab ソフトウェア (Actimetrics) を用いて解析した。

4. 研究成果

(1) 各種栄養条件下のマウス肝臓における糖新生系酵素遺伝子の日周性発現リズム形成機構

通常食

通常食を自由摂食したマウスの肝臓において, 糖新生系の律速酵素ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ PEPCK 遺伝子 *Pck1* の mRNA レベルは絶食期後期にピークを示し, グルコース-6-ホスファターゼ *G6Pase* 遺伝子 *G6pc* や, アミノ酸を代謝し糖新生の原料を供給するチロシンアミノトランスフェラーゼ *TAT* 遺伝子 *Tat* の mRNA レベルは絶食期後期から摂食期中期にかけて上昇した。

この際, 血漿コルチコステロン濃度は絶食期から摂食期中期にかけて上昇した。グルカゴン濃度は明らかな日内変動を示さなかったが, インスリン濃度は絶食期に低下したた

め, グルカゴン/インスリン (G/I) 比は上昇した。これらの結果は, コルチコステロンおよびインスリン濃度の変動が糖新生系酵素遺伝子の日周発現リズム形成に寄与することを示唆した。

なお, 逆説的に, グルカゴンとインスリン濃度には正の相関も見られ, これは両者が数分毎に交互にパルス性に分泌されることに因る可能性が考えられた。インスリン分泌を促進し, グルカゴン分泌は抑制するとされる GLP-1 も, インスリンに加え, グルカゴンとも濃度の正の相関を示したが, これも同様の理由に基づくと考えられた。グルカゴンと GLP-1 には, 他にも, 後に述べる絶食, 60%カゼイン食, 60%大豆タンパク質食条件下でも相関が見られた。グルカゴンと GLP-1 は PAI-1 とも正の相関を示し, インスリンを含め, これらの因子によるネットワーク形成が示唆された。

延長絶食

2 晩絶食の飢餓条件下では, 全般的に強度な低血糖が見られ, 糖新生系酵素 mRNA レベルが全般的に上昇した。

この際, コルチコステロン濃度は全般的に上昇した。グルカゴン濃度に著変は見られなかったが, インスリン濃度が全般的に著しく低下したため G/I 比が全般的に著しく上昇した。従って, 延長絶食時における糖新生系酵素遺伝子の日周発現リズムの変化にもコルチコステロン濃度と G/I 比の上昇が寄与することが示唆された。

延長絶食時におけるコルチコステロン濃度の全般的な上昇は, 低血糖に対する応答に加え, より一般的な代謝ストレスに起因する可能性が考えられた。グレリン濃度の全般的上昇やレプチン濃度の全般的低下が見られ, これらの変化は視床下部 - 下垂体 - 副腎軸に作用しコルチコステロン分泌を促進しうる。レプチンに加え他のアディポカインであるレジスチンも全般的に濃度が低下し, 同時にコルチコステロン濃度との相関も示し, その役割に関心が持たれた。

グルカゴンは, その分泌を促進する GIP に加えレプチンと共に正の相関三角を形成した。また, グルカゴンは GLP-1, レジスチンとも相関三角を形成した。これに, インスリン, GIP, レジスチンの相関三角も含め, 飢餓時に特徴的な液性因子のネットワーク形成が示唆された。

高脂肪食

高脂肪食条件下では, *Pck1*, *G6pc*, *Tat* のいずれの mRNA レベルも, 明期中期の ZT7 時に, 通常食に比べ, 2 倍以上上昇し, 日内変動の分散分析におけるリズム性に減衰が見られた。血漿 PAI-1 およびコルチコステロン濃度のリズム性が消失した。グルカゴンおよびインスリン濃度が明期中期 ZT11 時に, 通常食群に比べ, 有意に上昇した。このようなリズム性の減衰や非定時のホルモン濃度の上昇は, 高脂肪食条件下における明期の摂

食割合の増加に伴う摂食リズムの減衰が一因をなすと考えられた。

血漿レプチンおよびレジスチン濃度が全般的に上昇し、なおかつ両者には強い相関が見られた。また、両者はコルチコステロン濃度とも相関を示し、高脂肪食に特徴的なアディポカインを中心としたネットワークの顕在化が示唆された。

高炭水化物（無タンパク質）食

この食餌条件下では、全般的に軽度な低血糖が見られた。*Pck1* mRNA レベルは全般的に低下し、*G6pc* mRNA レベルは摂食期にむしろ上昇し、*Tat* mRNA レベルのリズム位相は前進するなど、3者で異なる変化が見られた。

G6pc mRNA レベルの逆説的な上昇に関しては、以下の魅力的な仮説が考えられた。無タンパク質食条件下の食間期、絶食期にはアミノ酸からの糖新生が不足し、グルコースの供給は、グリコーゲン分解への依存度を高める。従って、糖新生系酵素であると同時にグリコーゲン分解系酵素でもある *G6Pase* は、高炭水化物食条件下でも食間期、絶食期における誘導が必要と考えられた。

上記 延長絶食条件下と同様に、高炭水化物（無タンパク質）食条件下でも、コルチコステロンとグレリン濃度の全般的な上昇が見られ、低血糖に加え、一般的な代謝ストレスの負荷が示唆された。なお、コルチコステロン濃度はレジスチン濃度と、グレリン濃度は *GIP* 濃度と負の相関を示したが、他の液性因子間には全く相関が認められず、この食餌条件は液性因子間ネットワークの攪乱を来すものと推察された。

低タンパク質食および高タンパク質食

15%カゼインあるいは大豆タンパク質の低タンパク質食条件下では通常食群に比べ、*Pck1* および *Tat* mRNA レベルのリズム振幅の減衰が見られた。*G6pc* mRNA レベルは、15%カゼイン食では ZT7 および ZT15 時に、15%大豆タンパク質食では ZT19 時に、通常食に比べ、上昇が見られた。これは、低タンパク質食は相対的に高炭水化物食であり、上記高炭水化物（無タンパク質）食で見られた逆説的な上昇と同様の機序に因るものと考えられた。

コルチコステロン濃度は、15%大豆タンパク質食条件下 ZT15 時に、通常食および 60%大豆タンパク質食に比べ、上昇した。グレリン濃度は、15%カゼインあるいは大豆タンパク質食で共に摂食期に、通常食に比べ高々2倍程度ながら有意に上昇した。レプチン濃度は、15%カゼイン食で全般的に、15%大豆タンパク質食では絶食期から摂食期にかけて、上昇した。*GIP* 濃度は全般的に上昇し、15%カゼイン食でより顕著であった。15%カゼイン食では *PAI-1* とコルチコステロンに正の相関が、また両者とレジスチン間に負の相関が見られた。15%大豆タンパク質食ではレプチンとインスリンに正の相関が、また両者とグレリン間に負の相関が見られた。

高タンパク質食（60%カゼインあるいは大豆タンパク質）では、通常食あるいは低タンパク質食（15%各タンパク質）の対照群に比べ、摂食期に低血糖が見られた。60%大豆タンパク質食では、日周グルコース濃度のリズム性も認められた。

60%カゼイン食において、*Pck1* および *Tat* mRNA レベルは全般的上昇を示し、*G6pc* mRNA レベルは摂食期 ZT19 時に通常食に比べ、上昇傾向を示した ($p = 0.0535$)。60%大豆タンパク質食では、*Pck1*、*G6pc*、*Tat* のいずれの mRNA レベルも摂食期に上昇を示した。これらは、高タンパク質食条件下では対照群に比べ、グルコースが不足し、これを糖新生の活性化によって補償するためと考えられた。

この際、コルチコステロン濃度、インスリン濃度について、通常食に比較した際の有意な変化は限局的であったのに対し、グルカゴン濃度は摂食期を中心に有意あるいは有意傾向の上昇を示した。60%大豆タンパク質食では、*G/I* 比にも、有意あるいは有意傾向の上昇が認められた。グルカゴンは他の幾つかの液性因子と相関を示した。すなわち、60%カゼイン食では、グレリンと負の、インスリン、*GIP*、*GLP-1* と正の相関を示した。さらに、グレリンはインスリン、*GIP*、*GLP-1* と負の相関を示した。インスリンと *GIP* との正の相関とも合わせ、これらの液性因子は大規模なネットワークを形成する可能性が考えられた。また、60%大豆タンパク質食では、グルカゴンは *PAI-1* と相関し、両者は各々コルチコステロン、*GIP*、*GLP-1* と正の相関を示した。これにレプチン、*GIP*、*GLP-1* 間の正の相関を加え、大規模なネットワーク形成の可能性が示唆された。

まとめ

コルチコステロン、グルカゴン、インスリンを中心とする液性因子は栄養条件選択的な様式をもって糖新生系酵素遺伝子の日周性発現リズム形成に寄与することが示唆された。

(2) *Scg2* KO マウスにおける日周行動リズムの光刺激応答性の解析

行動開始位相の光パルスに応答した変位マウスを 12:12 明暗サイクルにて 2 週間飼育後、暗期 ZT14, 16, 18, 20, 22 時のいずれかに 350 ルクス、15 分間の光パルス照射を行い、以後恒暗条件下で飼育し、行動開始時点の照射前後における位相変位を照射時点に対してプロットした位相反応曲線を作成したところ、暗期後半の照射による位相前進が *Scg2* KO マウスで亢進する有意傾向を示した。

昼行性に対する枠光周期の効果

本来マウスは夜行性であるが、*Scg2* KO マウスには昼行性を示す個体が散見された。その原因解明のため、3 : 8.5 : 0.5 : 12 明暗明暗サイクルの効果調べた。枠となる 3 時間と 0.5 時間の明期に挟まれた 8 時間の主観的昼

における行動量に著減が見られ，昼行性は光刺激応答性と考えられた。なお，昼行性はヘテロ接合型にも見られることがあり，今後，遺伝子型との関連の解析が必要と考えられた。

明暗サイクル位相変化後の再同調

12:12 明暗サイクルの明期あるいは暗期の始点を6時間前方あるいは後方に変位させる合計4種類の明暗サイクル位相変位において，マウス行動リズム位相の明暗サイクル位相への再同調に要する日数について遺伝子型間の比較を行ったところ，暗期始点の6時間前方変位において，*Scg2* KO マウスは所用日数が短縮する傾向を示した。

まとめ

Scg2 KO マウスにおける日周行動リズムの光刺激応答性の亢進が示唆された。

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10件)

Shimada, H., Ito, M., Kagaya, A., Shiratori, T., Kuboshima, M., Suzuki, M., Liu, T. L., Nabeya, Y., Matsubara, H., Matsushita, K., Nomura, F., Takiguchi, M. and Hiwasa, T. Elevated serum antibody levels against cyclin L2 in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *J. Cancer Sci. Ther.* **7**, 60-66, doi: 10.4172/1948-5956.1000326 (2015) 査読有
Machida, T., Kubota, M., Kobayashi, E., Iwate, Y., Saeki, N., Yamaura, A., Nomura, F., Takiguchi, M. and Hiwasa, T. Identification of stroke-associated-antigens via screening of recombinant proteins from the human expression cDNA library (SEREX). *J. Transl. Med.* **13**, 71, doi: 10.1186/S12967-015-0393-4 (2015) 査読有
Morii, S., Kato, M., Seki, N., Shinmen, N., Iwase, K., Takiguchi, M. and Hiwasa, T. Inhibition of cell growth by nuclear receptor COUP-TFI: Possible involvement of decorin in growth inhibition. *Biochem. Physiol.* **S4**, 1, doi: 10.4172/2168-9652.S4-001 (2014) 査読有

Iwase, K., Ishihara, A., Yoshimura, S., Andoh, Y., Kato, M., Seki, N., Matsumoto, E., Hiwasa, T., Muller, D., Fukunaga, K. and Takiguchi, M. The secretogranin II gene is a signal integrator of glutamate and dopamine inputs. *J. Neurochem.* **128**, 233-245, doi: 10.1111/jnc.12467 (2014) 査読有

Adachi-Hayama, M., Adachi, A., Shinozaki, N., Matsutani, T., Hiwasa, T., Takiguchi, M., Saeki, N. and Iwate, Y. Circulating anti-filamin C autoantibody as a potential serum biomarker for low-grade gliomas. *BMC Cancer* **14**, 452, doi: 10.1186/1471-2407-14-452 (2014) 査読有
Miyachi, O., Iwase, K., Itoh, K., Kato, M.,

Seki, N., Braissant, O., Bachmann, C., Shozu, M., Sekiya, S., Osada, H. and Takiguchi, M. Efficient subtractive cloning of genes activated by lipopolysaccharide and interferon γ in primary-cultured cortical cells of newborn mice. *PLoS ONE* **8**, e79236, doi: 10.1371/journal.pone.0079236 (2013) 査読有

Matsutani, T., Hiwasa, T., Takiguchi, M., Oide, T., Kunimatsu, M., Saeki, N. and Iwate, Y. Autologous antibody to src-homology 3-domain GRB2-like 1 specifically increases in the sera of patients with low-grade gliomas. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **31**, 85, doi: 10.1186/1756-9966-31-85 (2012) 査読有

Nabeya, Y., Suzuki, T., Furuya, A., Koide, N., Ohkoshi, M., Takiguchi, M., Ochiai, T., Matsubara, H. and Hiwasa, T. Calpain regulates thymidylate synthase-5-fluoro-dUMP complex levels associated with response to 5-fluorouracil in gastric cancer cells. *Cancer Sci.* **102**, 1509-1515, doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01978.x (2011) 査読有

Kagaya, A., Shimada, H., Shiratori, T., Kuboshima, M., Nakashima-Fujita, K., Yasuraoka, M., Nishimori, T., Kurei, S., Hachiya, T., Murakami, A., Tamura, Y., Nomura, F., Ochiai, T., Matsubara, H., Takiguchi, M. and Hiwasa, T. Identification of a novel SEREX antigen family, ECSA, in esophageal squamous cell carcinoma. *Proteome Sci.* **9**, 31, doi: 10.1186/1477-5956-9-31 (2011) 査読有

Hiwasa, T., Utsumi, T., Yasuraoka, M., Hanamura, N., Shimada, H., Nakajima, H., Kitagawa, M., Iwate, Y., Goto, K. I., Takeda, A., Ohtsuka, K., Ariga, H. and Takiguchi, M. Functional similarity of anticancer drugs by MTT bioassay. *J. Cancer Sci. Ther.* **3**, 250-255, doi: 10.4172/1948-5956.1000099 (2011) 査読有

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀧口 正樹 (TAKIGUCHI MASAKI)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：40179578

(2) 研究分担者

岩瀬 克郎 (IWASE KATSURO)
千葉大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号：80322030

(3) 連携研究者

松本 絵里子 (MATSUMOTO ERIKO)
千葉大学・大学院医学研究院・技術職員

研究者番号：20422256

(4) 研究協力者

有田 恵美子 (ARITA EMIKO)
千葉大学・大学院医学研究院・技術職員

(5) 研究協力者

大平 綾乃 (OOHIRA AYANO)
千葉大学・大学院医学研究院・技術補佐員

(6) 研究協力者

玉井 恵子 (TAMAI KEIKO)
千葉大学・大学院医学研究院・技術補佐員

(7) 研究協力者

平良 暁子 (TAIRA AKIKO)
千葉大学・大学院医学研究院・博士課程大
大学院生