

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592994

研究課題名(和文) ストレス蛋白質誘導による心筋保護作用：多角的心保護戦略を目指して

研究課題名(英文) Myocardial protection by induced stress protein: the multilateral strategy for cardioprotection

研究代表者

北畑 洋 (KITAHATA, Hiroshi)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：60161486

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：胃潰瘍治療薬ゲラニルゲラニルアセトン(GGA)は、ストレス蛋白質を誘導し心筋保護作用を有する。このGGAによる虚血再灌流障害時の心筋保護効果における細胞膜マイクロドメイン、カベオラの役割および麻酔薬による心筋保護作用との関連を検討した。ワイルドタイプマウスおよびカベオリン-3ノックアウトマウスを用いた研究結果により、GGA投与による心筋保護作用はカベオリン-3を介することが明らかになった。今回、新生児ラット培養心筋細胞を使った実験系では、GGA投与による心筋保護作用は、オピオイドプレコンディショニングおよびポストコンディショニング作用には影響しないことが示された。

研究成果の概要(英文)：An anti-ulcer drug, geranylgeranylacetone (GGA), can protect the heart against ischemia/reperfusion injury by inducing heat shock protein. The purpose of this study was to determine whether integral membrane proteins, caveolins (Cav) are essential for GGA-induced myocardial protection and to evaluate the interaction between cardioprotection by GGA and anesthetic pre-/postconditioning.

The results of experiments with wild-type and Cav-3 knockout mice have proved that GGA-induced cardioprotection is dependent on Cav-3 expression. There was no interaction between the myocardial protection with GGA and opioid pre- and postconditioning in our experimental setting using cultured neonatal rat ventricular myocytes.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：心筋保護 ストレス蛋白質 虚血再灌流 プレコンディショニング ポストコンディショニング カベオラ カベオリン 低酸素

1. 研究開始当初の背景

手術、外科的処置や麻酔による侵襲は患者の循環動態を大きく変化させ、虚血性心疾患やそのリスクを有する患者の周術期心合併症の危険性を増加させる。周術期心筋虚血予防は、患者予後を左右する重要な課題である。

先行する短時間の虚血により、心筋はそれに続く長時間の虚血に耐性を示し梗塞サイズを縮小する。この先行虚血と同様の心筋保護作用が麻酔薬にもあることが多くの動物実験で報告され、1~2時間で作用の消失する **acute (early) anesthetic preconditioning** と 24~48 時間後に心保護作用をあらわす **delayed (late) anesthetic preconditioning** が存在する。しかし臨床研究においては揮発性吸入麻酔薬が心筋虚血マーカーを低下させる報告が散見されるが、患者の心筋梗塞発生や死亡率に関するエビデンスは得られていない。これは **anesthetic preconditioning** が加齢や糖尿病で減弱することが知られており、臨床においては心筋虚血のリスク患者に高齢者や糖尿病合併患者が多く含まれており、**acute anesthetic preconditioning** による心筋保護効果が弱いことが一因だと思われる。また周術期心筋虚血は術中よりも術後に多く発生し、術後 2 日までが危険であることが示されている (Mangano DT, et al., *J Am Coll Cardiol* 1991;17:843-50)。これは厳密なモニター管理下にある術中に加えて、術後の心筋保護が重要であることを示す。

この現状を打破するには複数の心筋虚血戦略を組み合わせたことが有効だと考えられる。

[戦略 1] ストレス蛋白質誘導：熱ショック等により誘導されるストレス蛋白質は分子シャペロンとして機能し、細胞障害により変性した蛋白質の再折りたたみを行い、修復不能な蛋白質の分解処理を補助する。

[戦略 2] 遅延期プレコンディショニング：揮発性吸入麻酔薬やオピオイドが投与 24~48 時間後に再び心筋保護作用を示すが、この遅延期プレコンディショニング作用は、より心筋虚血の危険性が高い術後の心筋虚血予防に重要な役割を果たすと思われる。

[戦略 3] ポストコンディショニング：短時間虚血や麻酔薬による刺激を長期間虚血の後に加えた場合においても心保護作用が引き起こされることが報告され、ポストコンディショニングとして注目を浴びている。このポストコンディショニングによる心筋保護作用は、虚血発生後に行なわれる手法であり、より臨床的であるとされている。

カベオラは細胞膜に存在する直径 50~100 nm 前後の陥凹であり、コレステロールやスフィンゴ脂質に富んだ膜ドメインで、断片的な性質は明らかにされてきた。カベオラの構成タンパクであるカベオリン-1, 2, 3 は両末端が細胞質側に露出し脂質分子と結合、シグナル伝達に参与する。カベオリン骨格ドメインと呼ばれる部分はその機能制御に参与す

ると考えられている。我々は揮発性吸入麻酔薬イソフルランによるプレコンディショニングによって細胞膜カベオラ数が増加し、カベオリンを介した心筋保護作用が活性化されることを突き止め (*Mol Cell Cardiol* 2008;44:123-30) カベオリン-3 過剰発現マウスにおいては虚血再灌流障害に対し内因的心筋保護作用が存在することを明らかにした (*Circulation* 2008;118:1979-88)。これらの結果からカベオラおよびカベオリン-3 が心筋保護作用に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

一方、我々は胃潰瘍治療薬として開発された **geranylgeranylacetone (GGA)** が熱ショックと同様に心筋においてストレス蛋白質を誘導し、心筋保護作用を示すことを明らかにした (*Anesth Analg* 2008;107:755-61)。この心筋保護作用はミトコンドリア ATP 感受性カリウムチャンネルが関与し、揮発性吸入麻酔薬セボフルランによる急性期プレコンディショニング作用により増強することを示した。しかしストレス蛋白質誘導が細胞膜のカベオラにどのような影響を与えるか？ ストレス蛋白質がカベオラ・カベオリンを介して心保護作用を発現するか？ 全く明らかになっていない。またストレス蛋白質誘導による心筋保護と遅延期プレコンディショニング作用/ポストコンディショニング作用との関連も未だ検討されていない。

2. 研究の目的

今回、ストレス蛋白質誘導による心筋保護作用におけるカベオラ・カベオリンの役割、麻酔薬オピオイドによる遅延期プレコンディショニング/ポストコンディショニング作用との関連を解明することを目的とする。(1) ストレス蛋白質誘導による心筋保護作用におけるカベオラ・カベオリンの役割

マウスの *in vivo* 虚血再灌流モデルにおいてストレス蛋白質誘導による心筋梗塞サイズ減少を確認し、カベオリン-3 ノックアウトマウスを用いてカベオリン-3 の影響を明らかにする。続いてマウス *in vitro* 遊離心筋細胞を用いて、ストレス蛋白質誘導によるカベオラ数およびカベオリン-3 の活性化を形態学的方法、**Western blotting** にて明らかにする。(2) ストレス蛋白質誘導と遅延期プレコンディショニング/ポストコンディショニングによる心筋保護作用の関連

ラット培養心筋細胞を用いた低酸素モデルにて、ストレス蛋白質誘導による心筋細胞死亡率への影響を測定する。続いて同様のモデルを使用しストレス蛋白質誘導に加えて、オピオイドによる遅延期プレコンディショニングおよびポストコンディショニングが心筋保護作用を増強するか検討する。

以上よりストレス蛋白質誘導による心筋保護作用におけるカベオラ・カベオリンの役割を解明し、複数の心筋保護戦略により心保護効果を増強させることができることを明

らかにする。

3. 研究の方法

動物実験に関しては動物実験計画書を徳島大学動物実験委員会で承認を受け、徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部総合研究支援センター動物資源研究部門の一元管理の下、徳島大学動物実験管理規則および関係法規を順守して行った。麻酔薬を使用し Scientists Center for Animal Welfare (SCAW) カテゴリーに準じた苦痛除去を行って動物実験を実施した。遺伝子組み換え実験に関しては、徳島大学遺伝子組換え実験安全管理委員会の承認を得ている。

(1) 実験 1

ワイルドタイプ C57BL/6 マウス(雄, 8-10 週齢, 体重 21-26g)およびカベオリン-3 ノックアウトマウス (Cav-3 KO; 横浜市立大学循環制御医学教室より取得し, ヘルスバイオサイエンス研究部総合研究支援センター動物資源研究部門において飼育・繁殖)を使用した。それぞれ処置 24 時間前に 0.4% レシチンで溶解した geranylgeranylacetone (GGA) を 200mg/kg 胃内投与した GGA 群と同量の vehicle を投与した Control 群に無作為に分類した。

ペントバルビタール 80mg/kg を腹腔内投与後に、気管切開を行い 20G カテーテルを気管内に挿入した。圧調整式人工呼吸器 (TOPO ベンチレータ; Kent Scientific Co., Torrington, CT) を用いて 100%酸素で人工呼吸下に開胸し、心臓を露出した。体温は加温パッドを用いて維持し、心電図電極を装着した。右総頸動脈から 1.4 F カテ先型圧トランスデューサー (model SPR-671; Millar Instruments, Houston, TX) を挿入し、血行動態測定用アンプ (model TC-510; Millar Instruments) に接続し、心拍数、動脈圧および rate pressure product (RPP) を計測した。

ベースラインデータを測定後に、虚血再灌流を行うため、左冠動脈前下行枝周囲に 7-0 絹糸を通し、動脈を損傷しないようにポリエチレンチューブを用いた。左冠動脈前下行枝を 30 分間閉塞し 120 分間再灌流を行った。実験終了後、心筋梗塞危険領域を同定するため再び左冠動脈前下行枝を閉塞し、1% Evans blue (1.0 mL; Sigma, St. Louis, MO) を静脈内投与した。速やかに心臓を摘出し、1% アガロース内で硬化させた。心臓を硬化後に heart matrix (McIlwain tissue chopper; Brinkmann Instruments, Inc., Westbury, NY) を使用して 1 mm 幅の横断スライスを作成し、心筋梗塞範囲を同定するため pH 補正した 37°C の 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride 3 ml で 5 分間攪拌し染色した。Tetrazolium は脱水酵素存在下に還元型ニコチンアミドアデニンヌクレオチド (NADH) と反応し、生存組織を深紅色に染める、一方壊死組織は薄黄色のままになる。染色後、10% ホルマリン液で一夜固定し、重

量測定後に CCD カメラ (DXM 1200F; Nikon Corp., Tokyo, Japan) を装着した顕微鏡 (model SZ61-TR; Olympus, Tokyo, Japan) で画像を記録した。画像は解析ソフトウェア (Image-Pro Plus; Media Cybernetics, Rockville, MD) を用いて、青く染まった非心筋梗塞危険領域、深紅色の生存領域、薄黄色の心筋梗塞領域を計測した。以上より心筋梗塞領域、梗塞危険領域および全左室面積をそれぞれ求め、梗塞領域/梗塞危険領域比 (IS/AAR)、梗塞危険領域/全左室比 (AAR/LV) を算出した。

各数値は平均値±標準偏差で表し、統計学的検討は、群間の検定を一元配置分散分析法 (ANOVA) および Bonferroni post hoc test で行い、 $P < 0.05$ をもって有意差ありとした。

(2) 実験 2

実験 1 と同様にワイルドタイプ C57BL/6 マウスおよびカベオリン-3 ノックアウトマウス (Cav-3 KO) を使用した。それぞれ処置 24 時間前に 0.4% レシチンで溶解した GGA を 200mg/kg 胃内投与した GGA 群と同量の媒体を投与した Control 群に無作為に分類した。

ペントバルビタール 80mg/kg を腹腔内投与直後に心臓を摘出し、2.5% グルタルアルデヒド、0.1M カコジル酸塩緩衝液で 2 時間室温下に固定した。さらに 1% OsO₄、0.1M カコジル酸塩緩衝液、酢酸ウラニルを添加し、エタノール液で脱水後、エポキシ樹脂に包埋した。超マイクローム (Reichert Ultracut E Ultramicrotome, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) を用いて標本切片を作成し、電子顕微鏡 (Hitachi H7650, Hitachi Co., Tokyo, Japan) で細胞表面を観察、単位表面積あたりのカベオラの数を測定した。

またワイルドタイプマウスのコントロール群および GGA 群において熱ショック蛋白 (heat shock protein: HSP) 70 およびカベオリン-3 の活性を Western blotting にて測定した。左室全体をショ糖密度膜分画法により勾配遠心で分離し、12 分画の各 1 ml アリコート抽出した。第 4-6 分画はカベオラやカベオラ関連タンパク質を多く含んだ浮遊膜分画からなり、9-12 分画は非浮遊膜分画として分離された。第 4-12 分画のタンパク質サンプルは、10% ポリアクリルアミドゲル上でドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、電気溶出によりポリニフ化ビニリデン膜に転写した。次にポリニフ化ビニリデン膜を 2.0% スキムミルク含有リン酸緩衝液に浸して室温でブロッキングを行った。その後、一次抗体 (HPS 70; SPA-810, Stressgen Bio-technologies Corp., Victoria, Canada, Cav-3; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA/Cav-3; BD Biosciences, San Jose, CA) で反応させた。結合した一次抗体は、ホースラディッシュ標識二次抗体と化学発光検出キット (Santa

Cruz Biotechnology and ECL reagent from Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ) を用いて検出した。各バンドを標準分子量に沿って適切な大きさに配置した。

各数値は平均値±標準偏差で表し、統計学的検討は unpaired Student's t test を用いて $P < 0.05$ をもって有意差ありとした。

(3) 実験 3

生後 1-4 日の SD ラット心室筋 (2.0×10^5 cells/ml, #CMCO21, プライマリーセル/コスモ・バイオ株式会社) を購入し、推奨播種濃度で 96 穴プレート (354407, BD 社,)、35mm シャーレ (コラーゲン Type1 コート, IWAKI), 35mm ガラスボトムディッシュ (マツナミガラス) を使用して、95% air/5% CO₂ 含有、37°C インキュベーター内で培養した。

細胞をコントロール群, vehicle 群, GGA 群, オピオイドプレコンディショニング (PC) 群, オピオイドポストコンディショニング (PoC) 群, GGA+PC 群, GGA+PoC 群に分類した。GGA 群および GGA+PC 群, GGA+PoC 群では、低酸素暴露 24 時間前に培養液中に GGA (10 μ M) を投与し、コントロール群および vehicle 群では同量の vehicle を投与した。PC 群および GGA+PC 群では、低酸素暴露 24 時間前に δ -オピオイド受容体刺激薬 [D-Pen^{2,5},p-CI-Phe⁴]-Enkephalin (Enkephalin, 1 μ M) を投与した。また PoC 群および GGA+Poc 群においては、低酸素暴露/再酸素化直後に Enkephalin (1 μ M) を投与した。

コントロール群以外の全群に虚血/再灌流モデルとして低酸素暴露/再酸素化を行った。低酸素暴露前に、10mM deoxy-d-glucose 添加, glucose (-) の無血清培地である Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, gibco) へ培地を交換した。低酸素チャンバー (MIC-101, AS ONE) を用い、6 時間低酸素状況 (95% N₂, 5% CO₂, 37°C) に暴露した。低酸素暴露中は、酸素濃度測定器 (OXY-1, JIKCO) を使用し、チャンバー内酸素濃度が 0.2% 未満であることを確認した。再酸素化は、ウシ胎児血清 (-), glucose (+) DMEM 中で、CO₂ インキュベーター内で 2 時間培養した。

再酸素化後に WST 試薬 (DOJINDO) を使用した。発色試薬である WST-8 試薬が、生細胞中の脱水素酵素により還元されて、オレンジ色の生成物である水溶性ホルマズンを生じることを利用し、その吸光度を測定することから生細胞率を判定した。また、trypsin 処理後にトリパンブルー染色を行う方法と、ガラスボトムディッシュ上でトリパンブルー染色を行う方法により細胞数をカウントし生存細胞の割合を計算した。

結果は平均値±標準偏差で示した。Unpaired Student's t test あるいは ANOVA および Scheffè's test を用いて統計学的検討を行い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

4. 研究成果

(1) 実験 1

ワイルドタイプおよび Cav-3 KO マウスのコントロール群, GGA 群の各群間で心拍数, 動脈圧, RPP の血行動態に有意差は認められなかった (表 1)。

	Control	GGA	Cav-3 KO	GGA + Cav-3 KO
Heart rate (/min)	421 ± 33	437 ± 21	413 ± 35	426 ± 37
MAP (mm Hg)	73 ± 6	69 ± 8	71 ± 4	70 ± 3
RPP (beats·min ⁻¹ ·mm Hg·10 ³)	30.5 ± 3.7	30.0 ± 3.3	29.4 ± 4.0	29.8 ± 2.3

MAP, mean arterial pressure; RPP, rate-pressure product. Data are expressed as mean ± SD.

表 1 各群における一般血行動態

各群の梗塞危険領域/全左室比 (AAR/LV) に有意差は認められなかった (図 1)。ワイルドマウスでは、24 時間前の GGA 投与により梗塞領域/梗塞危険領域比 (IS/AAR) は有意に減少した ($29.0 \pm 3.7\%$ [n = 8] vs. $44.1 \pm 9.3\%$ [n = 10])。しかし、この心筋保護作用は Cav-3 KO マウスにおいては完全に棄却された ($42.1 \pm 5.2\%$ [n = 8], 図 2)。

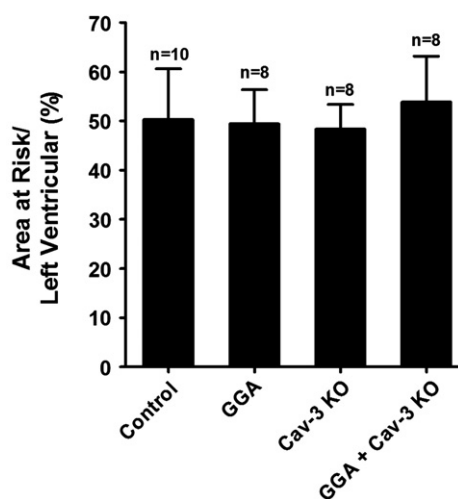


図 1 各群の梗塞危険領域/全左室比

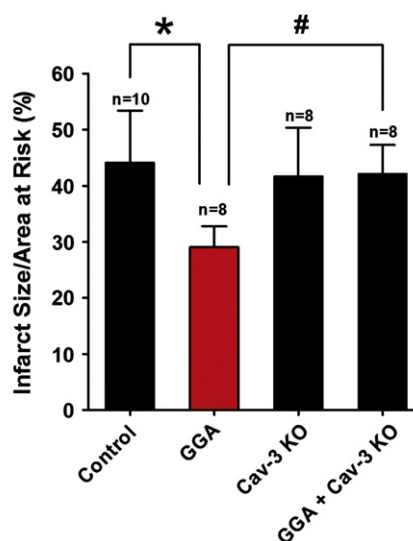
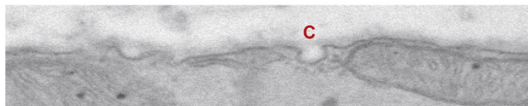


図 2 各群の梗塞領域/梗塞危険領域比

(2) 実験 2

コントロール群および GGA 群のカベオラの代表的な電子顕微鏡所見を図 1 に示す。コントロール軍と比較して、GGA 群では細胞膜カベオラ数が増加していた。しかし Cav-3 KO マウスでは、有意にカベオラ数が減少しており、GGA 群でも変化がなかった。

Control



GGA

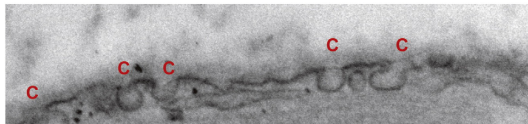


図 3 ワイルドマウスで GGA 投与は心筋細胞膜表面のカベオラ (赤色 C) 数を有意に増加させた。

ワイルドタイプマウスを用いて、勾配遠心で分離した第 4-6 分画のカベオラやカベオラ関連タンパク質を多く含んだ浮遊膜分画において、GGA 投与は Cav-3 タンパク (図 4A, 4B) および HSP 70 (図 5A, 5B) の発現を有意に増加させた。

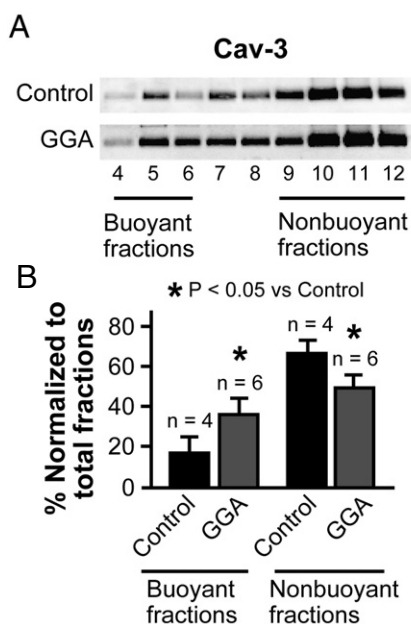


図 4 ワイルドタイプマウスにおけるカベオリン-3 タンパク質 (Cav-3) の発現

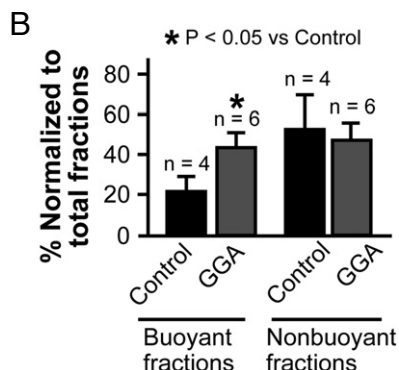
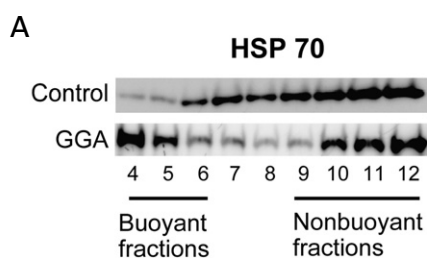


図 5 ワイルドタイプマウスにおける熱ショックタンパク質 70 (HSP 70) の発現

(3) 実験 3

WST 吸光度はコントロール群 (1.42 ± 0.13) に対して、低酸素/再酸素化を行った vehicle 群では 0.53 ± 0.06 と有意に低下した。しかし、GGA 群 (0.80 ± 0.06)、PC 群 (0.72 ± 0.11)、PoC 群 (0.82 ± 0.05) とそれぞれ上昇したが、両者を組み合わせても有意な変化は全く認められなかった (GGA+PC 群: 0.76 ± 0.10 , GGA+PoC 群: 0.74 ± 0.11)。

今回の研究により、胃潰瘍治療薬 GGA はストレス蛋白質 70 を誘導し、低酸素/再酸素化による障害から心筋保護作用を示すが、この心筋保護作用はカベオラ、カベオリン-3 を介することが明らかになった。また GGA は虚血・薬剤コンディショニングにとって重要なカベオリン-3 タンパクの発現を増強した。これは、心筋保護作用の時間的・空間的な組織化を促進するのに重要かもしれない。しかし培養心筋細胞モデルでは GGA はオピオイドプレ/ポストコンディショニング作用に影響を及ぼさなかった。

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 7 件)

- (1) Sakai Y, Kawahito S, Takaishi K, Mita N, Kinoshita H, Hatakeyama N, Azma T, Nakaya Y, Kitahata H: Propofol-induced relaxation of rat aorta is altered by aging. *The Journal of Medical Investigation* 61(3, 4): 2014 in press 査読あり DOI 未
- (2) Tsutsumi YM, Tsutsumi R, Horikawa YT, Sakai Y, Hamaguchi E, Kitahata H, Kasai A, Kambe N, Tanaka K: Geranylgeranylacetone and volatile anesthetic-induced cardiac protection synergism is dependent on caveolae and caveolin-3. *Journal of Anesthesia*, 2014, in press 査読あり
10.1007/s00540-014-1816-8

- (3) Mio Y, Uezono S, Kitahata H: Anesthetic Cardioprotection in Relation to Mitochondria: Basic Science. Current Pharmaceutical Design, 2014, in press 査読あり
10.2174/1381612820666140204110101
- (4) Takaishi K, Kitahata H, Kawahito S: Local anesthetics inhibit nitric oxide production and l-arginine uptake in cultured bovine aortic endothelial cells. European Journal of Pharmacology 704(1-3): 58-63, 2013 査読あり
10.1016/j.ejphar.2013.02.014
- (5) Stary CM, Tsutsumi YM, Patel PM, Head BP, Patel HH, Roth DM: Caveolins: targeting pro-survival signaling in the heart and brain. Frontiers in Physiology 3: 393, 2012 査読あり 10.3389/fphys.2012.00393
- (6) Kawahito S, Kawano T, Kitahata H, Oto J, Takahashi A, Takaishi K, Harada N, Nakagawa T, Kinoshita H, Azma T, Nakaya Y, Oshita S: Molecular mechanisms of the inhibitory effects of clonidine on vascular adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. Anesthesia Analgesia 113(6): 1374-1380, 2011 査読あり
10.1213/ANE.0b013e3182321142

〔学会発表〕（計 8 件）

- (1) Takaishi K, Kawahito S, Mita N, Eguchi S, Tomioka S, Kitahata H: The effects of intravenous anesthetics on *in vitro* angiogenesis and cell proliferation. Euroanaesthesia 2013, 2013/06/02, Centre Convencions Internacional Barcelona (Barcelona, Spain)
- (2) Takaishi K, Kawahito S, Nakamura D, Tatsuishi T, Eguchi S, Kitahata H: The effects of intravenous anesthetics on the release of vascular endothelial growth factor and angiogenesis. Euroanaesthesia 2012, 2012/06/10, Palais des Congres de Paris (Paris, France)
- (3) 堤 保夫, 田中 克哉, 神邊 紀子, 曾我 朋宏, 北畑 洋, 大下 修造: 心筋保護作用における吸入麻酔薬とゲラニルゲラニルアセトンの相互作用—細胞膜マイクロドメインに及ぼす影響— 日本麻酔科学会 第 59 回学術集会 2012/6/8 神戸ポートピアホテル・神戸国際展示場 (兵庫県神戸市)
- (4) 神邊 紀子, 堤 保夫, 大下 修造, 曾我 朋宏, 久米 克佳, 田中 克哉: アミノ酸の mTOR/p70S6K 経路を介した心筋保護作用の影響 日本麻酔科学会 第 59 回学術集会 2012/6/8 神戸ポートピアホテル・神戸国際展示場 (兵庫県神戸市)

- (5) Tsutsumi YM, Tanaka K, Kasai A, Kadota N, Oshita S: Protective effects of amino acids on the ischemic myocardium via mTOR/S6 kinase pathway. Experimental Biology Annual Meeting, 2012/4/23, San Diego Convention Center (San Diego, USA)
- (6) Tsutsumi YM, Horikawa YT, Kinoshita M, Tsutsumi R, Tanaka T, Oshita S: Geranylgeranylacetone induced delayed cardiac preconditioning requires caveolin-3. Experimental Biology Annual Meeting, 2011/4/31, Washington Convention Center (Washington D.C., USA)

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
北畑 洋 (KITAHATA, Hiroshi)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授
研究者番号: 60161486
- (2) 研究分担者
堤 保夫 (TSUTSUMI, Yasuo)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・講師
研究者番号: 90523499
- 高石 和美 (TAKAISHI, Kazumi)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教
研究者番号: 20325286
- (3) 連携研究者
川人 伸次 (KAWAHITO, Shinji)
徳島大学・大学病院・講師
研究者番号: 60284296