

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25253011

研究課題名(和文) 心臓線維化に関わる細胞群の機能分担と細胞環境の役割解析

研究課題名(英文) Roles of extracellular environment and various cells carrying different function for cardiac fibrosis

研究代表者

黒瀬 等 (KUROSE, HITOSHI)

九州大学・薬学研究院・教授

研究者番号：10183039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,100,000 円

研究成果の概要(和文)：心筋梗塞後、早期に血流が再開されない場合、心臓はポンプ機能の低下した心不全へと移行する。心不全への移行を促進する応答の一つが炎症である。梗塞部に生じる死細胞は炎症を引き起こすことから、死細胞の効率的な除去は心筋梗塞後の病態を改善させるため必要である。これまで、死細胞の除去はマクロファージなどの貪食細胞によって行われると考えられてきた。本研究では、梗塞後に出現する筋線維芽細胞が、アポトーシス細胞の貪食を仲介する分子(MFG-E8)に依存して死細胞を除去することを示した。筋線維芽細胞が死細胞を除去することで、心筋梗塞後の炎症に抑制的に働いていることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Heart often develops heart failure after myocardial infarction, if proper revascularization is not provided. Inflammatory responses are believed to be a factor to progress to heart failure after myocardial infarction. As inflammation is induced by the cellular components released from dead cells, the quick and efficient removal of dead cells in myocardial infarction is important for preventing the development of heart failure. So far, phagocytes such as macrophages and dendritic cells infiltrating infarct area are supposed to be the players of removing dead cells. In this study, myofibroblasts remove dead cell as well as phagocytes do. The removal of dead cells by myofibroblasts requires MFG-E8 that bridges between apoptotic cells and phagocytes. Thus, myofibroblasts remove dead cells after myocardial infarction, and suppress the progression to heart failure.

研究分野：循環薬理

キーワード：筋線維芽細胞 心筋梗塞 死細胞 抗炎症作用 免疫細胞

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞は冠動脈が閉塞することで生じる疾患である。梗塞によって血液の供給が途絶えるため、心臓を構成する各種の細胞、とくに酸素要求量の高い心筋細胞の細胞死が顕著に生じる。梗塞後、治療が適切に行われないと、心臓は心不全へと移行する。現在、日本での治療法の主流は心臓カテーテルを用いた早期の血流再開である。治療効果を得るためには、血流再開までの時間は7時間以内が望ましいとされている。心筋梗塞後には種々の応答が生じ、イオンチャネル、収縮タンパク質、細胞外マトリクスなどが変化することを心臓のリモデリングと呼んでいる。リモデリングは代償的な応答ではあるものの、過剰に進行すると心臓の機能低下をもたらすことから、好ましくない応答としてとらえられている。

心筋梗塞後のリモデリングの一つにコラーゲンの蓄積がある。適度なコラーゲンの蓄積は、細胞死を起し欠落した部位を補てんするため、形態の維持には必須の応答である。しかしながら、コラーゲンの過剰な蓄積は線維化と呼ばれ、心臓の柔軟性を損ない、効率的な収縮や弛緩を妨げるため、制御が必要な応答と考えられている。線維化の際にコラーゲンを産生する細胞が筋線維芽細胞である。

筋線維芽細胞は、5種類の細胞(心臓に常在性の線維芽細胞、骨髄由来の細胞、血管周囲に分布するペリサイト、上皮間葉転換を起こす細胞、内皮間葉転換を起こす細胞)を起源として生じる。しかしながら、異なる起源に由来する筋線維芽細胞が、違う機能をもつのかは明らかではない。

心筋梗塞後には、心筋細胞をはじめとする細胞の壊死、細胞死による細胞内容物の漏出、漏出した内容物による炎症応答などが生じる。炎症応答は組織の修復に必要ではあるものの、過剰な炎症応答は心臓の傷害を引き起こすため、細胞死を起こした細胞の速やかな貪食/除去が心機能および形態の維持に重要であると考えられている。壊死した細胞から漏出した細胞内容物は、マクロファージや樹状細胞などの免疫細胞を梗塞部位へ浸潤させる働きがある。浸潤してきた免疫細胞によって、死細胞が貪食/除去されると考えられている。しかしながら、梗塞部位で生じた死細胞が、免疫細胞以外の細胞によって貪食/除去される可能性や貪食/除去に関わる分子などについては、ほとんど明らかにされていない。

細胞死(アポトーシス)を起こした細胞の細胞膜表面にはホスファチジルセリンが出現する。表面のホスファチジルセリンを認識し、死細胞を貪食/除去するメカニズムとして3種の経路が報告されている。すなわち、

Abi/ Abi シグナル経路、 ELMO/ DOCK180/ Rac シグナル経路および ABC/ MFGF10/ GULP/ dynamin シグナル経路である。これらの経路のうち、いずれの経路が心筋梗塞後の

死細胞の貪食/除去に関わっているのか明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では、梗塞部位に浸潤してきた免疫細胞以外の細胞が、死細胞の貪食/除去に関わっている可能性および死細胞を貪食/除去する分子メカニズムの解析を目的とした。

3. 研究の方法

(1)心筋梗塞モデルマウスの作成

8-10 週齢の雄性マウスを心筋梗塞モデルマウスとして用いた。梗塞処置は左冠動脈前下行枝を縫合系で結紮することにより行った。この処置を施したマウスを心筋梗塞(MI)群とし、冠動脈の結紮以外は同様の処置を施したマウスを偽処置群とした。

(2)リコンビナント MFG-E8 タンパク質の調製

FLAG タグを付加した野生型マウス MFG-E8 およびインテグリン結合能を失った変異型(D89E)を NIH3T3 細胞に発現させ、Anti-FLAG M2 Affinity gel により精製した。

(3)リコンビナント MFG-E8 の心筋内への投与

MI 処置後に、梗塞領域と非梗塞領域の境界付近に野生型 MFG-E8 もしくは変異型 MFG-E8 D89E (160 ng/μL) を投与した。コントロールには、MFG-E8 溶液の溶媒であるリン酸緩衝液を投与したマウスを用いた。

(4)心機能の評価

MI 処置後の心機能の評価を心エコー検査(Nemio XG 汎用超音波画像診断装置)により行った。また、MI 施術後 28 日目に、心カテーテルを用いた血行動態学的パラメータの測定を行った。心エコー、心カテーテル法による心機能測定後、速やかに心臓、肺を摘出し、重量を測定した。また、一部の心臓は心機能の測定後、液体窒素中で保存、あるいはホルマリン液により固定した。

(5)免疫組織染色

MI 処置後1日目および3日目の心臓を摘出し、FSC22 Frozen Section Media (Leica Microsystems) に包埋し、液体窒素にて凍結させた。ブロック後、目的とするタンパク質は、それぞれを認識する各種抗体と反応させ、蛍光標識二次抗体で検出した。また、核を DAPI で染色した。

(6)アデノ随伴ウイルスを用いたマウス個体への遺伝子導入

アデノ随伴ウイルス(AAV)は、HEK293 細胞に AAV ベクターとヘルパープラスミドを導入することで作製した。AAV を回収後、塩化セシウム密度勾配遠心法による遠心により精製した。精製した AAV は、脱塩の後濃縮し、力価をリアルタイム RT-PCR により測定した。AAV を出生後 3 日目の C57BL/6J マウスに 20

μL (2×10^{13} copies/mouse) 皮下投与することで感染させた。

(7)フローサイトメトリーによる *in vivo* における貪食アッセイおよび目的タンパク質の発現の解析

MI 処置後 3 日目に心臓を摘出し、心房を取り除いた後に、心臓片を Collagenase cocktail (Collagenase type II, Elastase) で消化し、MI 処置後の心臓に存在するマクロファージおよび筋線維芽細胞を回収した。赤血球成分を除去した後、死細胞を標識し、APC 標識された PDGFR 抗体および PE 標識された CD11b 抗体を反応させ、洗浄後、FACS Aria III にて解析した。アポトーシス細胞の貪食評価は凍結切片においても行った。

また、タンパク質発現の定量解析は、一次および二次抗体で標識後、FACS Aria III にて行った。

(8)線維芽細胞および筋線維芽細胞の単離

生後 1 日目の新生児 SD ラットあるいは MI 処置後 3 日目のマウス心臓より心室を分取し、Collagenase cocktail (liberase, fatty acid-free bovine serum albumin, DL-hydroxybutyric acid) にて消化し、心線維芽細胞を含む細胞群を回収した。回収した細胞群から培養プレートへの迅速な接着性を利用し、心線維芽細胞を単離した。

(9)mRNA の定量

マウスの心臓から Total RNA を抽出した後、RNeasy Plus Mini Kit を用いて RNA を精製した。逆転写後、TaqMan Fast Advanced Master Mix のプロトコルに従い mRNA を定量した。

(10)貪食アッセイ

MI 処置後、梗塞領域に浸潤してくるマクロファージを FACS Aria III を用いて単離した。1 well あたりの細胞数が 5×10^4 cells になるよう、poly-L-Lysine でコーティングした 8-well chamber slide に播種した。また、単離した筋線維芽細胞を、1 well あたりの細胞数が 2×10^4 cells になるよう播種した。次に、胸腺細胞をデキサメサゾン処置しアポトーシスを誘導した。ネクロプトーシス細胞は L929 細胞より調製した。マクロファージおよび筋線維芽細胞のアポトーシスおよびネクロプトーシス細胞に対する貪食能を蛍光顕微鏡により評価した。

4. 研究成果

(1)死細胞の筋線維芽細胞による貪食/除去

申請者は、NIH-3T3 線維芽細胞を用いてアポトーシス細胞の貪食メカニズムを解析した実績がある。そこで、MI 後に大量に出現する筋線維芽細胞が死細胞の貪食/除去を行っている可能性があると考え、筋線維芽細胞を単離し貪食能を測定した。その結果、マクロファージと同様に筋線維芽細胞も貪食

能を持つことを見出した。また、マクロファージと筋線維芽細胞とでアポトーシス細胞の貪食能を比較したところ、筋線維芽細胞はマクロファージの約 3 分の 2 程度の貪食能を持っていた。さらに、筋線維芽細胞はネクロプトーシスを起こした細胞も貪食した。

筋線維芽細胞による死細胞の貪食を *in vivo* で評価した。アポトーシス細胞を TUNEL 染色により蛍光標識し、マクロファージのマーカー分子である CD68 と共染色した。TUNEL 陽性のアポトーシス細胞を取り込んでいる CD68 陽性マクロファージが観察された。筋線維芽細胞のマーカー分子である SMA と TUNEL を同様に共染色させたところ、アポトーシス細胞を取り込んでいる筋線維芽細胞が観察された。筋線維芽細胞の貪食能は、マクロファージの約 5 分の 2 程度であった。マウスの心筋細胞を AAV-EGFP を感染させることで標識した。MI 処置後の心臓を用い、筋線維芽細胞内における EGFP の蛍光強度をフローサイトメトリーを用い評価したところ、EGFP の蛍光が PDGFR 陽性線維芽細胞において認められた。これらの結果より、MI 後、筋線維芽細胞は死んだ心筋細胞を貪食/除去することが *in vitro* よび *in vivo* で明らかになった。

(2)筋線維芽細胞の貪食メカニズム

貪食関連分子の発現量をリアルタイム RT-PCR 法を用いて調べたところ、MFG-E8、インテグリン α v、インテグリン α 5、そして MerTK の発現量が、梗塞部位において上昇していた。MFG-E8 に着目し、MI 時における MFG-E8 のタンパク量を経時的に調べたところ、MFG-E8 は MI 処置後 4 日目において最も顕著に発現していた。また、MFG-E8 は梗塞部位および非梗塞部位の境界部分に多く発現していた。さらに、MFG-E8 の発現は、心臓の線維芽細胞のマーカー分子とほぼ同様の分布を示した。MI 後、線維芽細胞は分化し筋線維芽細胞になる。そこで、筋線維芽細胞での MFG-E8 の受容分子の発現を検討すると、インテグリン α v/ α 5 が検出された。

野生型マウスおよび MFG-E8 ノックアウトマウスの心臓より筋線維芽細胞を単離し、その貪食能を比較したところ、MFG-E8 ノックアウトマウス由来の筋線維芽細胞では顕著な貪食能の低下が観察された。しかし、この貪食能の低下は、リコンビナント MFG-E8 を添加すると、濃度依存的に回復した。これらの結果から、筋線維芽細胞は MFG-E8 を産生するとともに MFG-E8 を介してアポトーシス細胞を貪食することが明らかになった。

(3)野生型および MFG-E8 欠損マウスの MI 後の生存曲線

野生型および MFG-E8 ノックアウトマウスの MI 処置後の生存率を Kaplan-Meier 法にて評価した。MFG-E8 ノックアウトマウスは顕著な生存率の低下を示し、その最も大きな

原因は、MI 処置後 3-5 日目における心破裂によるものであった。MI 処置後 3 日目の心臓切片では、MFG-E8 ノックアウトマウスの TUNEL 陽性細胞の数が増加していた。また、TUNEL と筋線維芽細胞のマーカー分子である SMA とを共染色させたところ、MFG-E8 ノックアウトマウスでは、SMA 陽性筋線維芽細胞に取り込まれている TUNEL 陽性なアポトーシス細胞の数が、野生型マウスより有意に減少していた。さらに、MFG-E8 ノックアウトマウスの心臓ではアポトーシス細胞が貪食されずに蓄積していた。

貪食されなかったアポトーシス細胞は炎症応答を引き起こすことが知られている。そこで、MI 処置後 3 日目における炎症性サイトカインの遺伝子量を、野生型マウスと MFG-E8 ノックアウトマウスとの間で比較した。その結果、MFG-E8 ノックアウトマウスにおいて TNF- α をはじめとした各種の炎症性サイトカインの遺伝子量が上昇していた。

これらは、MFG-E8 が MI 後の病態に対して保護的に働くことを示していた。

(4)MFG-E8 を産生する筋線維芽細胞の起源

MI 時において、MFG-E8 を産生する筋線維芽細胞がどの細胞に由来するか、凍結切片を各種のマーカー分子にて染色することで検討した。

骨髄細胞由来の筋線維芽細胞が MFG-E8 を産生するかを評価するために、マウスの骨髄移植を行った。その結果、骨髄細胞由来の細胞に MFG-E8 の発現は一切観察されなかった。MFG-E8 を、ペリサイトのマーカー分子である PDGFR と共染色させたところ、MFG-E8 の発現は、ペリサイトにおいてほとんど認められなかった。心外膜細胞は上皮間葉転換を介して筋線維芽細胞に転換する。そこで、心外膜細胞のマーカー分子である Wt-1 と MFG-E8 とを共染色させた。しかし、Wt-1 陽性細胞において MFG-E8 の発現はほとんど認められなかった。これらの結果から、骨髄由来細胞、ペリサイトおよび心外膜細胞由来の筋線維芽細胞は MFG-E8 を産生しないことが示された。

内皮細胞は内皮間葉転換により間葉系細胞へ転換することが知られている。そこで、内皮細胞のマーカー分子である CD31 と MFG-E8 とを共染色させたところ、一部の MFG-E8 陽性かつ vimentin 陽性な線維芽細胞において、CD31 の発現が認められた。そこで、MFG-E8 を産生する筋線維芽細胞のうち、何パーセントの細胞が内皮細胞由来であるかを評価した。その結果、筋線維芽細胞のマーカー分子である SMA と MFG-E8 の両方の発現が認められた細胞のうち、約 20 パーセントの細胞が CD31 を発現していた。残りの約 80 パーセントは、マーカー分子が利用できない常在性の線維芽細胞由来である可能性が考えられた。

これらの結果から、常在性の線維芽細胞も

しくは内皮細胞から分化した筋線維芽細胞が MFG-E8 を産生することが明らかになった。

(5)リコンビナント MFG-E8 タンパク質の投与の効果

精製した MFG-E8 タンパク質を MI 処置直後に心筋内へ投与し、MI 処置後の病態を検討した。凍結切片上で TUNEL 染色によるアポトーシス細胞の数は、MFG-E8 投与群において有意に減少していた。これは、MFG-E8 投与によりアポトーシス細胞の貪食 / 除去が促進されていることを示している。さらに、MI 処置後の炎症性サイトカイン (インターロイキン-1 と MIP-2) の遺伝子量は、MFG-E8 投与量に依存して減少した。

MFG-E8 タンパク質投与が心機能に与える効果を心エコーにより観察した。その結果、MFG-E8 投与後 2 週目、6 週目、8 週目、10 週目における解析から、MFG-E8 投与群で左心室の内腔の拡大の抑制および心機能の改善が観察された。さらに、MI 処置後 10 週目における心機能を心カテテル法により血行動態学的に調べたところ、MFG-E8 投与により心臓の収縮能と拡張能の両方が改善していた。また、MFG-E8 投与群において梗塞領域の大きさが有意に低下していた。これらの結果より、MFG-E8 投与により MI 後の心機能が改善され、また梗塞領域が減少することが明らかになった。

MFG-E8 の心保護的な作用がアポトーシス細胞の貪食 / 除去によるかを明らかにするため、インテグリン受容体への結合能を欠いた MFG-E8 の点変異体 MFG-E8 D89E を MI 処置後のマウスの心筋内に投与した。この変異体は、インテグリンと結合しないことから、アポトーシス細胞表面のホスファチジルセリンをマスクすることで、貪食細胞がアポトーシス細胞に結合することを抑制する。MFG-E8 D89E を心筋内へ投与した凍結切片上では、TUNEL 陽性なアポトーシス細胞の数は有意に増加していた。また、炎症関連遺伝子 (インターロイキン-1 や MIP-2 の遺伝子) の発現量も有意に上昇していた。心機能を測定したところ、心機能の指標である駆出率 (EF) や短縮率 (FS) の値が有意に低下していた。さらに、心カテテルにより心機能を測定したところ、収縮能の指標である dp/dtmax および拡張能の指標である -dp/dtmin の値が、MFG-E8 D89E 投与群において有意に減少していた。また、拡張能の指標である EDP と Tau についても、MFG-E8 D89E 投与群で増加傾向がみられた (EDP および Tau 値の上昇は拡張能の低下を意味する)。さらに、MFG-E8 D89E を投与したマウスの心重量が有意に増加していた。これらの結果より、MFG-E8 D89E を MI 処置直後に心筋内へ投与することで、MI 後のアポトーシス細胞の貪食が適切に行われないために炎症応答が増強され、その結果として心機能を含めた病態が悪化することが明らかになった。

本研究では、病態時に現れる筋線維芽細胞が、MI時に生じる死細胞の貪食/除去を行うことを初めて明らかにした。また、筋線維芽細胞によるアポトーシス細胞の貪食はMFG-E8に依存していることも明らかにした。さらに、MFG-E8がアポトーシス細胞の除去を促進させることで、MI後の病態を改善させることを明らかにした。

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13件)【すべて査読有】

- (1) Nakaya M, Watari K, Tajima M, Nakaya T, Matsuda S, Ohara H, Nishihara H, Yamaguchi H, Hashimoto A, Nishida M, Nagasaka A, Horii Y, Ono H, Iribe G, Inoue R, Tsuda M, Inoue K, Tanaka A, Kuroda M, Nagata S, Kurose H.: Cardiac myofibroblast engulfment of dead cells facilitates recovery after myocardial infarction. *J Clin Invest.*, 127(1), 383-401 (2017).
- (2) Fukuda H, Ito S, Watari K, Mogi C, Arisawa M, Okajima F, Kurose H, Shuto S.: Identification of a Potent and Selective GPR4 Antagonist as a Drug Lead for the Treatment of Myocardial Infarction. *ACS Med Chem Lett.* 7(5):493-7 (2016).
- (3) Kurose H, Mangmool S.: Myofibroblasts and inflammatory cells as players of cardiac fibrosis. *Arch Pharm Res.* 39 (8): 1100-1113 (2016). (review)
- (4) Ohba Y, Nakaya M, Watari K, Nagasaka A, Kurose H.: GRK6 phosphorylates I B at Ser32/Ser36 and enhances TNF- α -induced inflammation via the activation of NF- κ B signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 461(2), 307-313 (2015).
- (5) Tobo A, Tobo M, Nakakura T, Ebara M, Tomura H, Mogi C, Im D-S, Murata N, Kuwabara A, Ito S, Fukuda H, Arisawa M, Shuto S, Nakaya M, Kurose H, Sato K, Okajima F.: Characterization of imidazopyridine compounds as negative allosteric modulators of proton-sensing GPR4 in extracellular acidification-induced responses. *PLoS One* 10(6), e0129334 (2015).
- (6) Watari K, Nakaya M, Kurose H.: Multiple functions of G protein-coupled receptor kinases. *Journal of Molecular Signaling* 9(1), 1-9 (2014). (review)
- (7) Nakaya M, Tajima M, Kosako H, Nakaya N, Hashimoto A, Watari K, Nishihara H, Ohba M, Komiya S, Tani N, Nishida M, Taniguchi H, Sato Y, Matsumoto M, Tsuda M, Kuroda M, Inoue K, Kurose H.:

GRK6-deficiency in mice causes autoimmune disease due to impaired apoptotic cell clearance. *Nat. Commun.* 4:1532 (2013).

- (8) Watari K, Nakaya M, Nishida M, Kim K-M, Kurose H.: -arrestin2 in infiltrated macrophages inhibits excessive inflammation after myocardial infarction. *PLoS ONE* 8(7), e68351 (2013).

〔学会発表〕(計7件)

- (1)
発表者: 黒瀬等
学会の名称: 生体機能と創薬シンポ2016
会期: 2016年8月25日(木)~26日(金)
場所: 東北大学川内北キャンパス
発表タイトル: シンポジウム 新しいアプローチによる心・血管系研究と創薬 「心筋梗塞におけるロイコトリエン B4 受容体の役割」
発表日: 8月26日(金)
- (2)
発表者: 黒瀬等
学会の名称: 第89回日本薬理学会年会
会期: 2016年3月9日(水)~11日(金)
場所: 横浜パシフィコ
発表タイトル: シンポジウム32 循環器薬理学研究: 最近の知見 「心筋梗塞時にGタンパク質共役型受容体によって仲介される応答」
発表日: 3月11日(金)
- (3)
発表者: 西俊英, 長坂明臣, 小野達貴, 仲矢道雄, 黒瀬等
学会の名称: 第14回生命科学研究会
会期: 2015年6月26日(金)~27日(土)
場所: 三浦市民ホール(三浦市三崎、神奈川)
発表タイトル: 心筋梗塞におけるpH感知性GPCR(TDAG8)の役割解析
発表日: 6月27日(土)
- (4)
発表者: 黒瀬等, 仲矢道雄
学会の名称: 第87回日本生化学会大会
会期: 2014年10月15日(水)~18日(土)
場所: 京都国際会館
発表タイトル: Symposium 1S07: Cardiac disease -regenerative medicine and drug development- 'The physiological and pathological roles of cardiac fibroblasts' (invited)
発表日: 10月15日(水)
- (5)
発表者: 黒瀬等
学会の名称: GPCR研究会2014
会期: 2014年5月9日(金)~10日(土)

場所：みらい CAN ホール（日本科学未来館、東京）
発表タイトル：G タンパク質共役型受容体をめぐる新しい展開（招待講演）
発表日：5月10日（土）

(6)

発表者：黒瀬等、仲矢道雄
学会の名称：第91回日本生理学会大会
会期：2014年3月16日（日）～18日（火）
場所：鹿児島大学 郡元キャンパス
シンポジウム 17 心筋組織の恒常性維持機構とその破綻
発表タイトル：心筋梗塞時に生じる炎症応答における線維芽細胞の役割（招待講演）
発表日：3月16日（日）

(7)

発表者：黒瀬等
学会の名称：The 7th IDRC Symposium: Potential Drug Targets for Metabolic and Inflammatory Disease
会期：August 26, 2013 (Mon) ~ August 27, 2013 (Tue)
場所：Seoul National University (Korea) Symposium II, Session 2
発表タイトル：Impairment of G Protein-coupled Receptor Kinase 6 (GRK6)-mediated Engulfment Causes Autoimmune Disease
発表日：August 27, 2013 (Tue)

〔図書〕(計2件)

(1)

著者名：黒瀬等
出版社名：医学書院
書名：標準薬理学(今井正、宮本英七 監修、飯野正光、鈴木秀典 編集)
第4章 G タンパク質共役型受容体
第5章 サイクリックヌクレオチドとタンパク質リン酸化
発行年(西暦)：2015年3月25日
総ページ数：34ページ

(2)

著者名：黒瀬等
出版社名：南山堂
書名：図解薬理学(鍋島俊隆、井上和秀 編集)
第3章 循環系の薬理
発行年(西暦)：2015年10月1日
総ページ数：129ページ

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)
該当なし

取得状況(計0件)

該当なし

〔その他〕
研究室のホームページ
<http://chudoku.phar.kyushu-u.ac.jp/>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
黒瀬 等 (KUROSE, Hitoshi)
九州大学・大学院薬学研究院・教授
研究者番号：10183039
- (2) 研究分担者
仲矢 道雄 (NAKAYA, Michio)
九州大学・大学院薬学研究院・准教授
研究者番号：80464387

長坂 明臣 (NAGASAKA, Akiomi)
九州大学・大学院薬学研究院・助教
研究者番号：10723877

(3) 連携研究者
該当なし

(4) 研究協力者
該当なし