

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09983

研究課題名(和文) 固形腫瘍における転写調節因子Id蛋白質の発現と放射線応答に果たす役割の解明

研究課題名(英文) Role of Id protein in radioresponse of solid tumor

研究代表者

安井 博宣 (Yasui, Hironobu)

北海道大学・アイソトープ総合センター・准教授

研究者番号：10570228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：転写調節因子Id1はがんの病態に深く関与する有望な治療標的であるが、放射線応答におけるId1の機能については不明な点が多い。本研究において、正常なp53を発現するA549細胞はId1ノックダウンによる放射線増感効果を示した一方で、p53発現に異常のある細胞株ではほとんど増感効果を認めなかった。A549細胞でのみX線照射により老化細胞の割合が顕著に上昇し、Id1ノックダウンはさらなる細胞老化の亢進を引き起こした。またId1ノックダウンはX線照射後のp21発現を増強していた。以上から、Id1はp21の発現抑制を介して放射線誘発細胞老化を抑制し、がん細胞の放射線抵抗性に寄与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recently, inhibitor of differentiation/DNA binding 1 (Id1) has been reported to play an important role in cellular processes such as proliferation and metastasis in cancer cells. However, the role of Id1 in the radioresistance of cancer cells remains unclear. In this study, knockdown of Id1 by its specific siRNA enhanced radiosensitivity of A549 cells expressing wild-type p53, but had little effect on HeLa or HT29 cells with aberrant p53 status. The population of senescent cells remarkably increased after X-irradiation in A549 cells, and this increase was enhanced by knockdown of Id1. X-ray-induced expression of p21, a key regulator for cellular senescence, was significantly higher in Id1-knockdown cells compared with control cells. These results indicate that Id1 contributes to the radioresistance of cancer cells via downregulation of radiation-induced senescence, suggesting that Id1 is a potent target to increase the effectiveness of cancer radiotherapy in some types of cancer.

研究分野：放射線生物学

キーワード：固形腫瘍 放射線 Idタンパク質 細胞老化 p53

## 1. 研究開始当初の背景

特定の分子を標的とした分子標的治療は、抗がん剤に比べ副作用の少ないがん治療法として注目されている。Inhibitor of differentiation/DNA binding (Id) タンパク質は helix-loop-helix (HLH) 構造を持つ転写調節因子であり、主に basic helix-loop-helix (bHLH) 型転写因子と結合する。bHLH 型転写因子は二量体を形成することで転写因子としての活性を獲得するが、DNA 結合領域を持たない Id タンパク質は、bHLH 型転写因子の二量体形成を競合的に阻害し、その標的遺伝子の発現を抑制する。bHLH 型転写因子ファミリーには myogenic differentiation 1 (MyoD1) や neuronal differentiation 1 (NeuroD1) といった分化を促進する因子が多く属しており、よって Id タンパク質の発現が高い場合には細胞は未分化な状態に保たれる。

近年、Id タンパク質ががんの病態に深く関与することが明らかとなっており、特に Id1 は有用ながん分子治療標的として注目されている。前述のように Id タンパク質は細胞を未分化な状態に保持する機能を有しており、分化後の成熟した細胞においては発現が低下している。しかし、乳がん、前立腺がん、食道がん、膀胱がん、子宮頸がん、肝臓がんならびに肺がんといった様々ながんにおいて Id1 の発現が異常に亢進していることが報告されている。がんにおける Id1 の具体的な機能は発がん、がん細胞の増殖、転移、浸潤ならびに血管新生など非常に多岐にわたる。このようにがんにおいて Id1 が重要な役割を果たすことから、Id1 を標的としたがん治療研究が行われている。しかしながら、Id1 のがん細胞の放射線感受性への関与については未だ統一した見解が得られていない。

## 2. 研究の目的

前述のように Id1 はがんにおいて重要な役割を果たし、有望ながん治療標的として注目されている一方、がん細胞の放射線応答における Id1 の役割に関する詳細な検討はほとんどなされていない。そこで本研究では、特異的阻害剤もしくは RNA 干渉法によってがん細胞における Id1 発現をノックダウンし、細胞の放射線感受性にどのような影響が生じるのか検討した。また、そのメカニズムを明らかにするために、放射線応答の一つである細胞老化に着目し、同様に Id1 ノックダウンによる影響を評価した。

## 3. 研究の方法

### (1) 細胞株および培養方法

ヒト肺腺がん由来 A549 細胞、ヒト乳腺がん由来 MDA-MB-231 細胞および MCF7 細胞、ヒト胃腺がん由来 MKN45 細胞および MKN28 細胞、ならびにヒト大腸腺がん由来 HT29 細胞の培養には、10% FBS を含む RPMI1640 培地を用い

た。ヒト子宮頸がん由来 HeLa 細胞、ヒト神経膠芽腫由来 U251 細胞および U87 細胞、ならびにヒト大腸腺がん由来 SW480 細胞の培養には、10% FBS を含む DMEM 培地を用いた。各細胞はウォータージャケット式インキュベーターにて 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下で維持した。

### (2) 試薬

Lipofectamine™ RNAiMAX、Stealth RNAi™ siRNA Negative Control Low GC Duplex (以後 Control siRNA と称す) ならびにヒト ID1 を標的とする 2 種類の Stealth RNAi™ siRNA は Thermo Fisher Scientific Inc. より購入した。抗 Id1 抗体、抗 p53 抗体、抗 p21 抗体、抗 Actin 抗体、HRP 標識抗ヤギ抗体、HRP 標識抗マウス抗体ならびに HRP 標識抗ウサギ抗体は Santa Cruz Biotechnology より購入した。抗リン酸化 p53 (Ser15) 抗体は Cell Signaling Technology より購入した。

### (3) X 線照射

X 線照射には X-RAD iR-225 (Precision X-Ray) を使用し、管電圧 200 kVp、管電流 15 mA、線源距離 650 mm、1.0 mm Al フィルター、線量率 1.37 Gy/min の条件で照射した。X 線照射はターンテーブル上に細胞を置き、回転させながら室温で行った。

### (4) siRNA の導入

トランスフェクションの前日に、抗生物質を含まない 10% FBS 添加 RPMI1640 培地または DMEM 培地を用いて細胞を 35 mm プラスチックシャーレに播種し、一晚培養した。その後、Lipofectamine™ RNAiMAX を用いて、Control siRNA または siId1 を細胞に無血清 optiMEM 培地にてトランスフェクションした。37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下で 4 時間培養後、10% FBS になるよう RPMI1640 培地を加え、引き続き 20 時間培養した。その後、10% FBS、ペニシリン G カリウムならびにストレプトマイシンを含む新鮮培地に交換し、各実験に使用した。

### (5) コロニー形成法

siRNA を導入した細胞を 60 mm プラスチックシャーレに適当数播種し、37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下で 6 時間培養して細胞を接着させた後、X 線照射を行った。A549 細胞、HeLa 細胞ならびに HT29 細胞ではそれぞれ 10、12 ならびに 14 日間培養した。メタノールを用いて細胞を 10 分間固定し、2% ギムザ染色液で一晩染色した。50 個以上の細胞を含むコロニーを計数し、細胞生存率は非照射対照群のコロニー形成率で標準化して算出した。得られた生存曲線について、Origin 8.6.0J を用いて直線二次式モデルに従ってフィッティングを行い、D10 (生存率を 10% とするのに必要な線量) を算出した。

#### (6) ウェスタンブロット法

細胞をスクレイパーまたはトリプシン処理により回収し、遠心後のペレットを Lysis buffer に溶解した。リン酸化 p53 検出用サンプルについては Lysis buffer に 1/100 量のホスファターゼ阻害剤カクテルを添加して使用した。-80 で凍結後に融解し、20,000 g、4 で 15 分間遠心し上清を回収した。タンパク質濃度を Bio-Rad Protein Assay Kit を用いて定量し、各試料中のタンパク質濃度を統一させた。SDS-PAGE 用試料調製緩衝液で調整後、3 分間加熱処理を行って泳動試料とした。試料を SDS-PAGE により分離し、ニトロセルロース膜に転写した。5%低脂肪スキムミルクを含む TBST により室温で 1 時間ブロッキングした。各一次抗体を 4 で一晩処理した。続いて HRP 標識二次抗体と室温で 1 時間反応させた。化学発光基質として Western Lightning Plus-ECL を使用し、画像解析装置 (LAS 4000 mini) にて撮影した。得られたバンド強度の解析には MultiGauge software (富士フィルム) を用いた。

#### (7) Senescence-associated- $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -gal) 染色による老化細胞の検出

siRNA を導入した細胞を新しい 35 mm プラスチックシャーレに接着させた後、X 線を照射した。SA- $\beta$ -gal 染色は Senescence- $\beta$ -Galactosidase Staining Kit (Cell Signaling Technology) を使用して製造元のプロトコルに従って行った。観察および画像の取得には BZ-9000 (KEYENCE) を用いた。老化細胞の割合は細胞 200 個あたりの SA- $\beta$ -gal 染色陽性細胞を計数することで評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 各種細胞株における Id1 タンパク質発現

はじめに様々な種類のヒト由来がん細胞株について、Id1 発現量の評価をウェスタンブロットにより行った。評価した 10 種類の細胞株のうち、MCF7 細胞および SW480 細胞を除く細胞株において明瞭なバンドが観察された (図 1)。Id1 の高発現が認められた細胞株のうち、上皮系腫瘍に由来し、それぞれがん抑制因子 p53 の発現状態が異なる A549 細胞、HeLa 細胞ならびに HT29 細胞を以後の実験に使用した。A549 細胞は野生型 p53 を正常に発現している細胞である。HeLa 細胞は野生型 p53 遺伝子を有するがヒトパピローマウイルスに由来する E6 タンパク質を発現しており、これが p53 を分解するためタンパク質レベルでの p53 発現量の非常に低い細胞である。また、HT29 細胞は DNA 結合領域に存在する 273 番目のアルギニンがヒスチジンに変異した変異型 p53 を発現する細胞である。

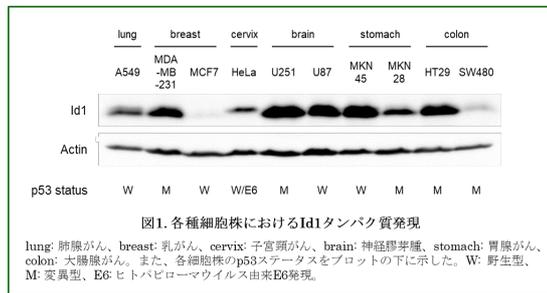


図1. 各種細胞株におけるId1タンパク質発現

lung: 肺癌がん、breast: 乳がん、cervix: 子宮頸がん、brain: 神経膠芽腫、stomach: 胃腸がん、colon: 大腸がん。また、各細胞株のp53ステータスをプロットの下に示した。W: 野生型、M: 変異型、E6: ヒトパピローマウイルス由来E6発現。

#### (2) Id1 ノックダウンによる細胞の X 線感受性への影響

Id1 ノックダウンががん細胞の放射線感受性に与える影響を評価するため、A549 細胞、HeLa 細胞ならびに HT29 細胞を用いてコロニー形成法を行った (図 2)。図中のプロットは再播種時の Id1 発現量を表し、また各生残曲線の D10 および増感比 [D10(Control siRNA)/ D10(siId1)] を示した。どの細胞株においても、siRNA の導入により Control siRNA に対し 40%以上の Id1 発現抑制効果が確認された。生残曲線について、全ての細胞においてトランスフェクション試薬のみを導入した Mock 群および Control siRNA 導入群の両群間に大きな差は認められなかった。A549 細胞 (野生型 p53) において、Control siRNA 導入群の D10 が 5.79 Gy であったのに対し、sild1 #2 および #3 導入群はそれぞれ 4.53 Gy および 4.71 Gy と低下した (図 2A)。増感比は sild1 #2 および #3 についてそれぞれ 1.28 および 1.23 となり、Id1 ノックダウンによる放射線感受性の上昇すなわち放射線増感効果が観察された。HeLa 細胞 (野生型 p53/E6) では Control siRNA、sild1 #2 ならびに #3 導入群の D10 がそれぞれ 5.98 Gy、5.96 Gy ならびに 6.21 Gy となった (図 2B)。sild1 #2 および #3 の増感比はそれぞれ 1.00 および 0.96 であり、放射線増感効果は認められなかった。HT29 細胞 (変異型 p53) の D10 は Control siRNA、sild1 #2 ならびに #3 導入群についてそれぞれ 5.81 Gy、5.09 Gy ならびに 5.51 Gy となった (図 2C)。sild1 #2 および #3 の増感比はそれぞれ 1.14 および 1.05 であり、放射線増感効果はほとんど認められなかった。以上のように、p53 を正常に発現する A549 細胞においては Id1 ノックダウンによって放射線感受性が上昇することが示された。以降の実験では、A549 細胞においてより強い放射線増感効果を示した sild1 #2 を使用した。また、siRNA 以外に Id1 の特異的阻害剤とされるカンナビジオールでの放射線増感効果も検討したが、薬剤単独での毒性が強く、はっきりとした増感効果を示すことはなかった (データ未掲載)。

#### (3) Id1 ノックダウンによる X 線照射後の細胞老化への影響

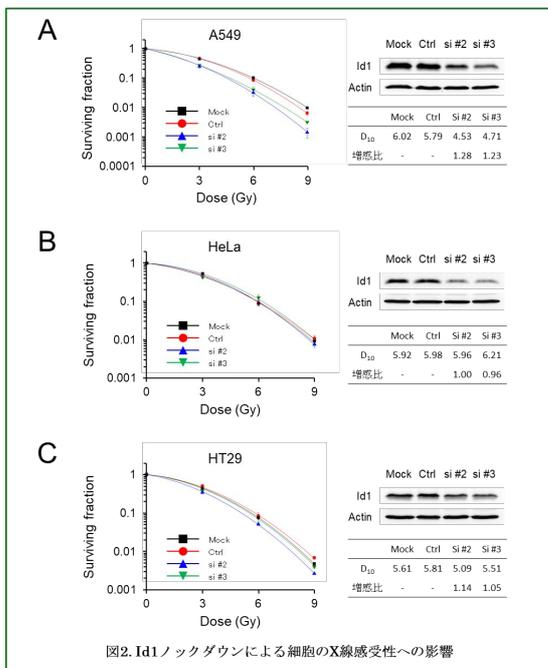


図2. Id1 ノックダウンによる細胞のX線感受性への影響

Id1 発現抑制による放射線感受性上昇の機序を明らかにするため、まずアポトーシス誘導および細胞周期に対する Id1 ノックダウンの影響を評価した (データ未掲載)。これは Id1 がアポトーシス誘導に抑制的に働くことでタキソールなどの抗がん剤に対する抵抗性に関与しているという報告や、Id1 が細胞周期調節を介して放射線感受性に関与している可能性を示した報告に基づき、両者の関与を検証したものである。アポトーシスについては 20 Gy の X 線照射後 0、24、48 ならびに 72 時間の時点でアポトーシス細胞の割合を定量した。細胞周期については 10 Gy の X 線照射後 0、24 ならびに 48 時間の時点で細胞周期分布を解析した。結果、両方の実験において、対照群と siId1 #2 導入群との間に顕著な差は認められなかった。したがって、本研究で観察された Id1 ノックダウンによる放射線感受性の変化に、アポトーシス誘導の増強や放射線感受性期にあたる細胞周期への細胞分布の増加は関与していないことが示唆された。

そこで、続いて Id1 ノックダウンによる放射線増感効果における細胞老化の関与について評価した。細胞老化はアポトーシス、ネクローシスならびに分裂期崩壊とともに、放射線によって誘発される主要な細胞死の一つとされ、特に p53 を正常に発現する細胞においては p53-p21 経路によって高頻度に生じることが知られている。図 2 に示したように p53 の発現が正常な細胞および異常な細胞の間で結果に差異が認められたことから、Id1 ノックダウンによる放射線感受性の上昇に細胞老化が関与しているのではないかと考え検証を行った。siRNA を導入した A549 細胞および HeLa 細胞を新しいシャーレに再播種し、6 時間培養後に 10 Gy の X 線を照射した。照射後 0 (非照射群)、24、48、72、96 なら

びに 120 時間の時点で SA-β-gal 染色を行った。SA-β-gal 染色は老化細胞が pH 6.0 付近においても β-ガラクトシダーゼ活性を示すことを利用した検出法である。pH 6.0 の条件下で X-gal を基質として反応させ、加水分解後の生成物により青色を呈した細胞を老化細胞として定量した (図 3A、B)。A549 細胞において、Control siRNA 導入群は SA-β-gal 染色陽性細胞の割合が照射後経時的に上昇し、120 時間後の時点で  $62.5 \pm 3.2\%$  であった。siId1 #2 導入群は陽性細胞の割合の上昇がさらに顕著であり、48 時間以降 Control siRNA 導入群に比べ有意に高く、照射後 120 時間では  $83.8 \pm 2.8\%$  となった。一方、HeLa 細胞では、同様に経時的な上昇が認められたものの A549 細胞に比べその程度は小さく、照射後 120 時間の時点で Control siRNA 導入群および siId1 #2 導入群についてそれぞれ  $12.3 \pm 2.2\%$  および  $21.2 \pm 4.5\%$  であった。以上から、A549 細胞で観察された Id1 ノックダウンによる放射線感受性の上昇について、細胞老化の促進がその原因の一つであることが示唆された。また HeLa 細胞のように p53 発現に異常を持つ細胞においては Id1 の発現の有無に関わらず放射線誘発細胞老化が起こりにくく、放射線感受性に影響しなかった可能性が考えられる。

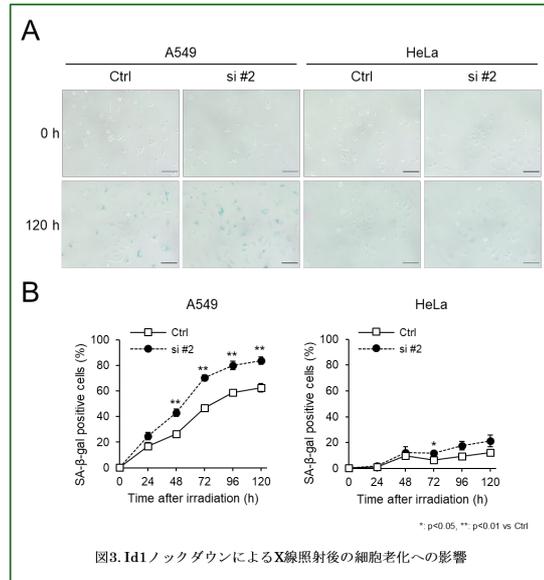
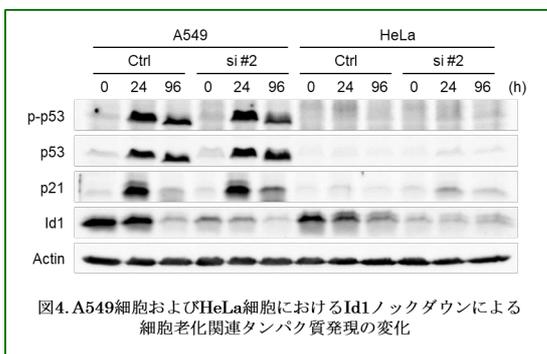


図3. Id1 ノックダウンによるX線照射後の細胞老化への影響

#### (4) Id1 ノックダウンによる X 線照射後の細胞老化関連タンパク質発現への影響

細胞老化の誘導経路は現在まで複数報告されているが、最も主要な経路の一つとして p53-p21 経路が挙げられる。図 3 に示した Id1 ノックダウンによる細胞老化への影響をさらに詳細に検討するため、p53 リン酸化レベル、p53 発現量ならびに p21 発現量の評価を行った。p53 リン酸化レベルは、DNA 損傷応答における主要なリン酸化部位である 15 番目のセリン残基について評価した。先の実験と同様に A549 細胞および HeLa 細胞に siRNA を導入した後、10 Gy の X 線照射を行った。

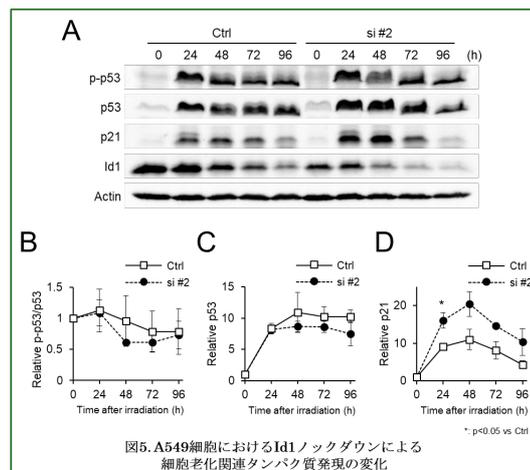
照射後 0 (非照射群)、24 ならびに 96 時間の時点で細胞を回収し、p-p53 (Ser15)、p53、p21 ならびに Id1 をウエスタンブロットにより検出した (図 4)。A549 細胞では p53 リン酸化レベル、p53 および p21 発現量がいずれも X 線照射によって顕著に上昇した。p53 リン酸化レベルおよび p53 発現量については Control siRNA と siId1 #2 導入群の間で差は認められなかった。p21 については Control siRNA 導入群に比べ siId1 #2 導入群で照射後 96 時間まで発現の上昇が維持される傾向が認められた。一方、HeLa 細胞では p-p53 および p53 が X 線照射後においてもほとんど検出されず、E6 タンパク質の機能により p53 が分解を受けたためと考えられる。p53 の下流メディエーターである p21 についても、siId1 #2 導入群では X 線照射後に若干の上昇が認められたものの A549 細胞に比べその発現量は低かった。



X 線照射後の A549 細胞における Id1 ノックダウンによる p21 発現への影響についてさらに詳細に検討するため、照射後の細胞のサンプリング間隔を細かく取り、同様の実験を行った (図 5)。図 4 と同様に p53 リン酸化レベルおよび p53 発現量については Id1 ノックダウンによる影響は認められなかった (図 5B、C)。p21 については X 線照射後の発現量が Control siRNA 導入群に比べ siId1 #2 導入群で高くなる傾向が認められ、照射後 24 時間の時点では有意な上昇が観察された (図 5D)。以上から、A549 細胞での Id1 ノックダウンによる X 線照射後の細胞老化亢進とともに、p21 の発現上昇が生じていることが示された。

Id1 の放射線応答における役割については関連する知見が極めて少なく、その詳細な機構もほとんど解明されていない。したがって、本研究の結果から、ある種のがん細胞において Id1 が放射線抵抗性に関与していること、またそのメカニズムとして放射線誘発細胞老化への抑制的な関与が示唆されたことは、共に新しい知見である。また、現在までに検証されている Id1 を標的としたがん分子標的治療に加え、放射線療法との併用によるさらなる治療の効率化を図るうえでも重要な知見であると考えられる。細胞老化に至るシグナル経路について本研究では Id1 と p53-p21 経路の関連について検証したが、p16-Rb 経路など p53-p21 経路以外の細胞老化誘導機構に

についても今後解析をする必要がある。



## 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 12 件)

Sakai Y., Yamamori T., Yasui H., and Inanami O. (2015) Downregulation of the DNA repair enzyme apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 stimulates transforming growth factor-1 production and promotes actin rearrangement. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 461(1):35-41. (査読あり) DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.03.163.

Sakata K., Kondo T., Mizuno N., Shoji M., Yasui H., Yamamori T., Inanami O., Yokoo H., Yoshimura N., and Hattori Y. (2015) Roles of ROS and PKC- $\beta$  II in ionizing radiation-induced eNOS activation in human vascular endothelial cells. *Vascul. Pharmacol.* 75:55-65. (査読あり) DOI: 10.1016/j.vph.2015.03.016.

Yamamori T., Ike S., Bo T., Sasagawa T., Sakai Y., Suzuki M., Yamamoto K., Nagane M., Yasui H., and Inanami O. (2015) Inhibition of the mitochondrial fission protein dynamin-related protein 1 (Drp1) impairs mitochondrial fission and mitotic catastrophe after x-irradiation. *Mol. Biol. Cell.* 26(25):4607-4617. (査読あり) DOI: 10.1091/mbc.E15-03-0181.

Maeda K., Yasui H., Matsuura T., Yamamori T., Suzuki M., Nagane M., Nam J.M., Inanami O., and Shirato H. (2016) Evaluation of the relative biological effectiveness of spot-scanning proton irradiation in vitro. *J. Radiat. Res.* 57(3):307-311. (査読あり)

DOI: 10.1093/jrr/rrv101.

Suzuki M., Yamamori T., Yasui H., and Inanami O. (2016) Effect of MPS1 inhibition on genotoxic stress responses in murine tumour cells. *Anticancer Res.* 36(6):2783-2792. (査読あり)  
<http://ar.iijournals.org/content/36/6/2783.abstract>

Maeda K., Yasui H., Yamamori T., Matsuura T., Takao S., Suzuki M., Matsuda A., Inanami O., and Shirato H. (2016) A nucleoside anticancer drug, 1-(3-C-ethynyl- $\beta$ -D-ribo-pentofuranosyl)cytosine, induces depth-dependent enhancement of tumor cell death in spread-out Bragg peak (SOBP) of proton beam. *PLoS One.* 11(11): e0166848. (査読あり)  
DOI: 10.1371/journal.pone.0166848.

Yamamori T., Sasagawa T., Ichii O., Hiyoshi M., Bo T., Yasui H., Kon Y., and Inanami O. (2017) Analysis of the mechanism of radiation-induced upregulation of mitochondrial abundance in mouse fibroblasts. *J. Radiat. Res.* 58(3):292-301. (査読あり)  
DOI: 10.1093/jrr/rrw113.

Yasui H., Yamamoto K., Suzuki M., Sakai Y., Bo Tonoki., Nagane M., Nishimura E., Yamamori T., Yamasaki T., Yamada K.I., and Inanami O. (2017) Lipophilic triphenylphosphonium derivatives enhance radiation-induced cell killing via inhibition of mitochondrial energy metabolism in tumor cells. *Cancer Lett.* 390(1):160-167. (査読あり)  
DOI: 10.1016/j.canlet.2017.01.006.

Sun L., Moritake T., Ito K., Matsumoto Y., Yasui H., Nakagawa H., Hirayama A., Inanami O., and Tsuboi K. (2017) Metabolic analysis of radioresistant medulloblastoma stem-like clones and potential therapeutic targets. *PLoS One.* 12(4): e0176162. (査読あり)  
DOI: 10.1371/journal.pone.0176162.

Yasui H., Kawai T., Saito K., Matsumoto S., Devasahayam N., Mitchell J.B. Camphausen K., Inanami O., and Krishna M.C. (2017) Quantitative imaging of pO<sub>2</sub> in orthotopic murine gliomas: Hypoxia correlates with resistance to radiation. *Free. Radic. Res.*

51(9-10):861-871. (査読あり)  
DOI: 10.1080/10715762.2017.1388506.

Yasui H., Kubota N., Nishizumi J., Sakai Y., Yamamori T., and Inanami O. (2018) Preclinical study on hypoxic radiosensitizing effects of glycididazole in comparison with those of doranidazole in vitro and in vivo *Oncol Lett.* 15(2):1993-1998. (査読あり)  
DOI: 10.3892/ol.2017.7481.

[学会発表](計 3 件)

“転写調節因子 Id1 ノックダウンが放射線感受性に与える影響とそのメカニズムの解明” 竹内麻依、安井博宣、鈴木基史、酒井友里、山盛徹、稲波修 第158回日本獣医学会学術総会 in 北里大学(十和田市, 青森) 2015.9.7-9  
“がん細胞の放射線応答における転写調節因子 Id1 の役割” 安井博宣、竹内麻依、山盛徹、松本英樹、高橋昭久、稲波修. 日本放射線影響学会第59回大会 in JMS アステールプラザ (広島市, 広島) 2016.10.26-28  
“転写調節因子 Id1 は p53 依存的に放射線誘発細胞老化を抑制する” 安井博宣、竹内麻依、山盛徹、松本英樹、高橋昭久、稲波修 第23回癌治療増感研究会 in 軽井沢プリンスホテル (軽井沢町, 長野) 2017.7.15

[図書](計 0 件)

[その他]

ホームページ等  
[https://www.hokudai.ac.jp/radiois/kenkyu\\_top.html](https://www.hokudai.ac.jp/radiois/kenkyu_top.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
安井 博宣 (YASUI, Hironobu)  
北海道大学・アイソトープ総合センター・准教授  
研究者番号: 10570228

(2) 研究分担者  
山盛 徹 (YAMAMORI, Tohru)  
北海道大学・獣医学研究院・准教授  
研究者番号: 00512675