

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H06221

研究課題名（和文）ゲノムに局在するユビキチン様修飾分子Ufm1による生活習慣病防御機構の解明

研究課題名（英文）Defense mechanism against lifestyle diseases by ubiquitin-like modifier UFM1

研究代表者

渡部 昌 (watanabe, masashi)

北海道大学・医学研究院・講師

研究者番号：10632424

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,300,000円

研究成果の概要（和文）：質量分析により既知の分子を含むUFM1化タンパク質を同定した。このうちいくつかの分子についてはIn vivo UFM1化アッセイにより、実際にUFM1化を受けていることを確認した。これらの基質の中で、ロイコトリエン代謝酵素LTA4Hに着目した。UFM1はLTA4Hに対し非共有結合・共有結合という二つの様式で結合することが明らかとなった。さらに、UFM1ノックダウンによりLTA4Hの代謝産物であるロイコトリエンB4量が増加することを見出したため、UFM1はLTA4Hを介してロイコトリエン代謝を制御していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代の社会において、日本人の死亡原因に生活習慣病が多くを占めるようになり、この中でも動脈硬化の進行をいかに制御するかということが焦点となっている。厚生労働省の平成22年度国民医療費の調査によると、生活習慣病は約3割を占めており、社会・倫理的な観点からも重要である。UFM1は生活習慣病に対して防御的に機能することが知られているが、その詳しいメカニズムはこれまでのところ明らかではなかった。本研究により、生活習慣病との関連が指摘されている慢性炎症の制御因子として重要なロイコトリエン代謝酵素とUFM1の関係が明らかとなってきた。治療標的として将来の医学の発展への貢献も期待できると思われる。

研究成果の概要（英文）：UFM1ylated proteins containing substrates reported previously were identified by mass spectrometric analysis of affinity-purified UFM1-conjugates. We confirmed that some of these substrate candidates were actually subjected to UFM1 conjugation by in vivo UFMylation assay. Among these substrates, we focused on LTA4H, which was one of leukotriene-metabolizing enzyme. We found that UFM1 not only covalently binds to LTA4H, but also non-covalently. Furthermore, we found that UFM1 knockdown increased the amount of leukotriene B4, which was the metabolite of LTA4H. These results suggest that UFM1 regulates leukotriene metabolism via LTA4H.

研究分野：タンパク質翻訳後修飾

キーワード：ユビキチン様修飾分子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) ユビキチン/ユビキチン様タンパク質による生活習慣病の制御

2 型糖尿病や動脈硬化などの生活習慣病は多岐に渡る遺伝的素因と環境要因が組み合わさって引き起こされる多因子疾患である。多くの因子の中で、ユビキチンおよびユビキチン様タンパク質の関与が指摘されている。インスリンシグナルのエフェクターIRS1をユビキチン化するユビキチンリガーゼとしてCBLB、本態性高血圧に関与する腎臓上皮型ナトリウムチャネルENaCをユビキチン化するNEDD4-2、家族性高血圧症に関与するWNK1/WNK4をユビキチン化するKLHL3、LDL受容体をユビキチン化するIDOLなどが知られ、さらにユビキチン様タンパク質SUMO4の55番目のMet残基のValへの変異が1型糖尿病に関与することも報告されている。本研究ではこれらのユビキチン・ユビキチン様タンパク質の中で、UFM1(ubiquitin-fold modifier 1)に着目した。ユビキチン/ユビキチン様タンパク質修飾は多岐に渡る細胞機能の制御に携わる極めて重要な翻訳後修飾である。ユビキチン様タンパク質は、ユビキチンに類似した立体構造を有し、基質と共有結合するタンパク質であり、NEDD8、SUMO、ISG15、FAT10、FUB1、Atg12、Atg8、Urm1、そしてUFM1が見出されている。UFM1は85アミノ酸からなる低分子量のタンパク質であり、カルボキシル末端には種間で保存されたグリシン残基をもつ。アミノ酸配列上はユビキチンとの相同性は低いが(16%)、立体構造はユビキチンに類似している。UFM1修飾に関わる分子は酵母には存在せず、植物や後生生物より存在することから、多細胞生物において重要な役割を果たすと考えられる。ユビキチンの場合と同様に、UFM1はE1酵素によって活性化されてチオエステル結合を形成し、E2酵素に転移され、E3酵素によって基質のリジン残基の $\epsilon$ -アミノ基にイソペプチド結合する。

#### (2) マクロファージの泡沫化と動脈硬化

高血圧や糖尿病などにより血管にストレスがかかると、LDLコレステロールが血管内皮下に入り込み酸化される。毒性を持つ酸化LDLを除くために、マクロファージがそれらを取り込むことで除去を試みるが、過剰に酸化LDLが存在するとマクロファージは泡沫化する。その結果、泡沫化したマクロファージは血管内皮下に蓄積し動脈硬化が悪化する。マクロファージに取り込まれた酸化LDLの分解産物は、核内受容体型の転写因子LXR(liver X receptor)を活性化することでAIM(apoptosis inhibitor of macrophage)の発現を誘導し、その結果アポトーシスを抑制して動脈硬化を悪化させることが知られている。一方UFM1は、このLXRを制御することによって、マクロファージの泡沫化による動脈硬化の進展を抑えることが報告されている。

#### (3) 2型糖尿病と小胞体ストレスによる膵臓細胞のアポトーシス

膵臓細胞は多量のインスリン合成・分泌を担う細胞であり、インスリン分子の成熟の間である小胞体へのストレスが高いため小胞体へのストレスに対して脆弱であり、ストレスが閾値を越えるとアポトーシスが誘導される。実際にヒトの2型糖尿病では、膵臓細胞量が減少し小胞体ストレスが活性化している。一方、UFM1は小胞体ストレス応答によって転写が誘導されることが知られている。UFM1は、小胞体ストレスが活性化されている2型糖尿病、虚血性心疾患のマウスモデルにおいても発現が上昇しており、小胞体ストレスによる膵臓細胞のアポトーシスを抑制するため、2型糖尿病の進行を抑える働きを有することが示唆されている。以上のことからUFM1は複数の独立した機序で2型糖尿病、動脈硬化などの生活習慣病を防御しているが、詳細なメカニズムについては未だ研究の余地が大きいと考えられる。

#### (4) ユビキチン/ユビキチン様タンパク質による転写制御

一方、転写制御因子ASC1がクロマチン領域でUFM1化され、エストロゲン受容体の活性化とエストロゲン依存性乳癌の発生に必須の役割を果たすことが近年報告された。実際に我々は、UFM1がクロマチン領域に局在することを見出していたため、UFM1による膵臓細胞死の抑制やマクロファージ泡沫化抑制はクロマチン領域に局在するタンパク質のUFM1化によって制御されている可能性が考えられた。そこで、本研究ではUFM1のゲノム上の局在とUFM1化タンパク質の同定を行なうことで、UFM1の生活習慣病防御機能を明らかにすることを目指した。

### 2. 研究の目的

ユビキチンやユビキチン様タンパク質によるタンパク質の修飾は様々な生命現象で必須な役割を担う極めて重要な翻訳後修飾の一つである。UFM1は最も新しく同定されたユビキチン様タンパク質であり、膵臓細胞のアポトーシスやマクロファージ泡沫化の抑制に必須の役割を果たし、2型糖尿病や動脈硬化といった生活習慣病に対し広く防御因子として機能する。しかし、そのメカニズムは不明な点が多かった。本研究ではUFM1のゲノム領域における局在に着目すると同時に、UFM1化されるタンパク質の同定を行い、2型糖尿病・動脈硬化を始めとした生活習慣病防御機能を明らかにすることを目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) UFM1の細胞内局在についての検討

レトロウイルスベクターを用いて、UFM1ノックダウンHEK293T細胞株を樹立した。この細胞を細胞質、核質、クロマチンの各分画に分け、UFM1抗体を用いたウエスタンブロット法を行った。

#### (2) UFM1化タンパク質の同定

CMV プロモーターの下流に FLAG-UFM1 を組み込んだレトロウイルスベクターを作製した。このベクターを用いてレトロウイルスを作製し、FLAG-UFM1 安定発現 HEK293T 細胞株を樹立した。また、同様の方法により、FLAG-UFM1 安定発現 MCF7 細胞株を樹立した。この細胞株を用いて、1%SDS を含む溶解バッファーで溶解後に 90 ° で 10 分間加熱して変性し、FLAG-UFM1 と他の分子の共有結合以外の相互作用を破壊した。SDS を含んでいない溶解バッファーで 10 倍希釈後に抗 FLAG 抗体を用いて免疫沈降することで UFM1 と共有結合したタンパク質のみを精製し、質量分析器による解析を行った。

#### (3) UFM1 化タンパク質の検証

実際に同定された UFM1 化タンパク質の一部の分子について細胞内での UFM1 化アッセイを行って検証した。

#### (4) ゲノム上 UFM1 局在の検証

HEK293T 細胞株を用いて、クロマチン免疫沈降処理の条件検討を行った。具体的には、HEK293T 細胞を DSG またはホルムアルデヒドにて固定後、核分画を抽出し、溶解バッファーにて溶かした後に、Picoruptor による超音波破碎によってクロマチンを断片化、抗体によってクロマチン免疫沈降処理を行った。各ステップで複数の条件を検討し、ChIP-qPCR 法を元に最適なクロマチン断片化条件を見出した。この条件を元に、ChIP-seq 解析を行った。

#### (5) UFM1 によって発現が変動する遺伝子群の同定

UFM1 ノックダウン HEK293T 細胞、コントロール HEK293T 細胞を用いて通常条件下、小胞体ストレス誘導条件下で培養後に回収し、RNA を抽出した。調製したサンプルを用いて RNA シークエンス解析を行った。

#### (6) UFM1 化タンパク質に関する細胞生物学的解析

UFM1 化を受ける分子の中に脂質メディエーターの制御因子 LTA4H が含まれていたため、関連する細胞生物学的解析を行った。

## 4. 研究成果

### (1) UFM1 の細胞内局在についての検討

UFM1 抗体を用いたウエスタンブロット解析の結果、UFM1 がクロマチン分画に多く分布していることを見出した。

### (2) UFM1 化タンパク質の同定

質量分析の結果、約 100 個の UFM1 化タンパク質候補を得た。これらの中には、過去に基質として報告されている UBA5、UFC1、DDRKG1 などが含まれていた。また、MCF7 細胞株を用いて、同様に溶解後に変性し、抗 FLAG 抗体を用いて免疫沈降して UFM1 と共有結合したタンパク質のみを精製し質量分析器による解析を行ったところ、約 90 個の UFM1 化タンパク質候補を得た。多くは HEK293T 細胞での結果と一致しており、UBA5、UFC1、DDRKG1 といった既知の基質も含まれていた。

### (3) UFM1 化タンパク質の検証

In vivo UFM1 化アッセイにより、一部の分子について実際に UFM1 化を確認した。また、LTA4H は UFM1 化を受けるとともに UFM1 分子そのものと非共有結合的に相互作用していることを確認した。一方、質量分析にて LTA4H の UFM1 化部位の同定を試みたものの、UFM1 化の証拠となるような、LTA4H のリジン残基に ValGly がイソペプチド結合したペプチドを検出することができなかったため、UFM1 化部位の絞り込みを行うために LTA4H の欠失変異体を作製して UFM1 化アッセイを行ったところ、少なくとも LTA4H のアミノ末端側のドメインに UFM1 化サイトが存在することを見出した。さらに、UFM1 化タンパク質 LTA4H が UFM1 化経路を制御する可能性についての検証を行った。UFM1 化経路を構成する酵素は、自己 UFM1 化を受けることが知られている。同定した UFM1 化タンパク質 LTA4H も UFM1 化経路を制御する可能性があると考え、細胞内で LTA4H をノックダウンし、UFM1 抗体によるウエスタンブロット解析により、細胞内 UFM1 化タンパク質の変化を検討した。しかし、LTA4H のノックダウンにより細胞内 UFM1 化タンパク質に大きな変化を認めることはなかったため、LTA4H は UFM1 化経路本体には影響を与えていないものと考えられた。

### (4) ゲノム上 UFM1 局在の検証

条件検討を元に、サンプルを調製し次世代シーケンサーによるデータ取得、および下流の解析を行った。しかし、有意なピークを得ることができないという結果となった。相互相関解析により ChIP サンプルの質を検討したところ、"marginal" または "failed" という結果となり、サンプルの質が不良であることがわかった。この結果はポジティブコントロールとして用いた RNA ポリメラーゼ II に対する抗体で行った ChIP サンプルでも同様の結果であった。これまで次世代シーケンサーによるデータ取得前に、qPCR による解析で既知の結合部位および非結合部位での増幅の有無を確認することで条件検討を行っていたが、この時は既知の結合部位で増幅していること、非結合部位で増幅していないことを確認できていた。したがってライブラリ作製時のゲノム DNA 断片の長さなどに問題があったと考えられたため、対策として、再度のクロマチン断片化、ライブラリ調整時の ChIP DNA 断片化の条件をあらゆる角度から検討を行っているが、未だに条件が確定していない状況である。

### (5) UFM1 によって発現が変動する遺伝子群の同定

RNA シークエンス解析を行い、発現が変動する遺伝子群を同定した。

(6) UFM1 化タンパク質に関する細胞生物学的解析

UFM1 化タンパク質 LTA4H は脂質メディエーターの代謝酵素であったため、ヒト好塩基球細胞株 KU812F で UFM1 をノックダウンし、ELISA 法を用いて代謝産物量の測定を行った。すると、UFM1 のノックダウンにより代謝産物量の増加を認めた。UFM1 はおそらく LTA4H を介して代謝産物の生成に対し抑制的に機能している可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Matsumoto J, Takada S, Kinugawa S, Furihata T, Nambu H, Kakutani N, Tsuda M, Fukushima A, Yokota T, Tanaka S, Takahashi H, Watanabe M, Hatakeyama S, Matsumoto M, Nakayama KI, Otsuka Y, Sabe H, Tsutsui H, Anzai T  | 4. 巻<br>138               |
| 2. 論文標題<br>Brain-Derived Neurotrophic Factor Improves Limited Exercise Capacity in Mice With Heart Failure   | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Circulation  | 6. 最初と最後の頁<br>2064 ~ 2066 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035212">https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035212</a>  | 査読の有無<br>無                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Yanagi Teruki, Watanabe Masashi, Hata Hiroo, Kitamura Shinya, Imafuku Keisuke, Yanagi Hiroko, Homma Akihiro, Wang Lei, Takahashi Hidehisa, Shimizu Hiroshi, Hatakeyama Shigetsugu  | 4. 巻<br>78                |
| 2. 論文標題<br>Loss of TRIM29 Alters Keratin Distribution to Promote Cell Invasion in Squamous Cell Carcinoma  | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Cancer Research  | 6. 最初と最後の頁<br>6795 ~ 6806 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1495">https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1495</a>  | 査読の有無<br>無                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Yaguchi H, Yabe I, Takahashi H, Watanabe M, Nomura T, Kano T, Matsumoto M, Nakayama KI, Watanabe M and Hatakeyama S  | 4. 巻<br>494               |
| 2. 論文標題<br>Sez6l2 regulates phosphorylation of ADD and neuritogenesis.   | 5. 発行年<br>2017年           |
| 3. 雑誌名<br>Biochem. Biophys. Res. Commun.   | 6. 最初と最後の頁<br>234-241     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.047">https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.047</a>  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Yabe I, Yaguchi H, Kato Y, Miki Y, Takahashi H, Tanikawa S, Shirai S, Takahashi I, Kimura M, Hama Y, Matsushima M, Fujioka S, Kano T, Watanabe M, Nakagawa S, Kunieda Y, Ikeda Y, Hasegawa M, Nishihara H, Ohtsuka T, Tanaka S, Tsuboi Y, Hatakeyama S, Wakabayashi K, Sasaki H. | 4. 巻<br>8                 |
| 2. 論文標題<br>Mutations in bassoon in individuals with familial and sporadic progressive supranuclear palsy-like syndrome.  | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Sci. Rep.  | 6. 最初と最後の頁<br>819         |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.1038/s41598-018-19198-0">https://doi.org/10.1038/s41598-018-19198-0</a>  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Yaguchi H, Yabe I, Takahashi H, Watanabe M, Nomura T, Kano T, Watanabe M, and Hatakeyama S   | 4. 巻<br>265(4)        |
| 2. 論文標題<br>Anti-Sez6l2 antibody, detected in a patient with immune-mediated cerebellar ataxia, inhibits complex formation of GluR1 and Sez6l2. | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>J. Neurol.   | 6. 最初と最後の頁<br>962-965 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.1007/s00415-018-8785-z">https://doi.org/10.1007/s00415-018-8785-z</a>                  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Watanabe M and Hatakeyama S  | 4. 巻<br>14            |
| 2. 論文標題<br>Fine-tuning of thymocyte development by ubiquitination-mediated stability control of the ESCRT protein CHMP5. | 5. 発行年<br>2017年       |
| 3. 雑誌名<br>Cell. Mol. Immunol.  | 6. 最初と最後の頁<br>957-959 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.1038/cmi.2017.91">https://doi.org/10.1038/cmi.2017.91</a>        | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Mizushima W, Takahashi H, Watanabe M, Kinugawa S, Matsushima S, Takada S, Yokota T, Furihata T, Matsumoto J, Tsuda M, Chiba I, Nagashima S, Yanagi S, Matsumoto M, Nakayama K, Tsutsui H, Hatakeyama S | 4. 巻<br>100         |
| 2. 論文標題<br>The novel heart-specific RING finger protein 207 is involved in energy metabolism in cardiomyocytes.  | 5. 発行年<br>2016年     |
| 3. 雑誌名<br>J. Mol. Cell. Cardiol.   | 6. 最初と最後の頁<br>43-53 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.09.013">http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.09.013</a>  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-           |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Anwar D, Takahashi H, Watanabe M, Suzuki M, Fukuda S and Hatakeyama S   | 4. 巻<br>1859          |
| 2. 論文標題<br>p53 represses the transcription of snRNA genes by preventing the formation of little elongation complex.                   | 5. 発行年<br>2016年       |
| 3. 雑誌名<br>Biochim. Biophys. Acta-Gene Regul. Mech.  | 6. 最初と最後の頁<br>975-982 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagr.2016.06.001">http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagr.2016.06.001</a> | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-             |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Watanabe M and Hatakeyama S   | 4. 巻<br>161           |
| 2. 論文標題<br>TRIM proteins and diseases.  | 5. 発行年<br>2017年       |
| 3. 雑誌名<br>J. Biochem.   | 6. 最初と最後の頁<br>135-144 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.1093/jb/mvw087">https://doi.org/10.1093/jb/mvw087</a> | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-             |

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Watanabe M  |
| 2. 発表標題<br>Comprehensive identification of E3 ubiquitin ligase substrates by fusion of TUBE and ligase trapping methods. |
| 3. 学会等名<br>The 2nd GI-CoRE GSQ, GSB, & IGM JOINT SYMPOSIUM Quantum, Informatics, Biology & Medicine (招待講演) (国際学会)        |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Watanabe M   |
| 2. 発表標題<br>Identification of E3 ligase substrates by fusion of TR-TUBE and ligase trap methods. |
| 3. 学会等名<br>Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on the Ubiquitin Family (国際学会)                 |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>渡部 昌, 高橋秀尚, 畠山鎮次                         |
| 2. 発表標題<br>ユビキチンリガーゼTRIM23はPPAR の安定化を介して脂肪細胞分化を制御する |
| 3. 学会等名<br>第89回日本内分泌学会学術総会                          |
| 4. 発表年<br>2016年                                     |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>渡部 昌, 高橋秀尚, 畠山鎮次   |
| 2. 発表標題<br>ユビキチンE3リガーゼTRIM23は非定型ポリユビキチン化によるPPAR の安定化を介して脂肪細胞分化を制御する |
| 3. 学会等名<br>第68回日本細胞生物学会大会   |
| 4. 発表年<br>2016年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>渡部 昌, 高橋秀尚, 畠山鎮次                                       |
| 2. 発表標題<br>ユビキチンリガーゼTRIM23は非定型ポリユビキチン化によるPPAR の安定化を介して脂肪細胞分化を制御する |
| 3. 学会等名<br>第89回日本生化学会大会   |
| 4. 発表年<br>2016年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>渡部 昌, 高橋秀尚, 畠山鎮次  |
| 2. 発表標題<br>The E3 ubiquitin ligase TRIM23 regulates adipocyte differentiation via stabilization of the adipogenic activator PPAR |
| 3. 学会等名<br>第39回日本分子生物学会年会 (招待講演)   |
| 4. 発表年<br>2016年  |

〔図書〕 計1件

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Masashi Watanabe and Shigetsugu Hatakeyama  | 4. 発行年<br>2017年 |
| 2. 出版社<br>Nova Science Publishers                     | 5. 総ページ数<br>23  |
| 3. 書名<br>Advances in Medicine and Biology. Volume 120 |                 |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-



6. 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|