

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2017～2021

課題番号：17H01584

研究課題名（和文）癌転移骨環境を空間的・時間的に制御する生体活性付加カーボンの開発と安全性評価

研究課題名（英文）Development of bioactive nanocarbon composite enabling spatial and temporal control of the metastatic bone cancer environment and biosafety assessments

研究代表者

齋藤 直人（Saito, Naoto）

信州大学・学術研究院保健学系・教授

研究者番号：80283258

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 32,700,000円

研究成果の概要（和文）：カーボンナノホーンとビスホスホネートの複合体を作製し、破骨細胞に作用させると、破骨細胞の機能を抑制した。また、カーボンファイバーと抗癌剤の複合体は癌細胞を死滅させた。更にカーボンファイバーは骨形成の足場材料として働き、骨組織再生を促進することを明らかにした。この様に、生体活性付加カーボンを癌転移骨に注入し、破骨細胞・癌細胞・骨芽細胞に作用させると、骨破壊停止・癌細胞抑制・骨修復促進という一連の反応により癌転移骨環境を空間的・時間的に制御することができる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カーボンナノホーンとビスホスホネートは破骨細胞を抑制したが、この材料と薬を連結させるHAそのものが骨基質の成分であり、骨親和性が高い。また抗癌剤を複合したカーボンファイバーは、癌細胞を抑制するためのDDSとしての役割を果たすと、一転して骨形成の足場材となり、二重の働きを示した。このように、癌転移骨環境を制御する際に最終目標である骨欠損の修復にそれぞれの材料が寄与する治療法はまれであり、学術的意義が大きい。高齢化社会で癌骨転移の患者が増える中、本研究が臨床応用されれば患者のQOLと生存期間が延長し、社会的意義も大きいものとなる。

研究成果の概要（英文）：We have demonstrated that composites of carbon nanohorns and bisphosphonate drugs could be phagocytosed into osteoclasts to significantly inhibit their bone resorptive function. In addition, carbon fiber and anticancer drug composites were observed to effectively reduce cancer cell number in both in vitro and in vivo studies. The carbon fiber also acted as osseous scaffolding and promoted bone tissue regeneration. Thus, when introducing carbon materials complexed to bioactive molecules into metastatic bone for interactions with osteoclasts, cancer cells, and osteoblasts, the metastatic bone environment can be controlled spatially as well as temporally by a series of responses, namely, bone destruction termination, cancer cell suppression, and bone repair promotion.

研究分野：生体医工学、整形外科学

キーワード：癌骨転移 抗癌剤 抗破骨細胞薬 カーボンファイバー カーボンナノホーン Drug delivery system

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

癌は死因の第一位であり、多くの癌は骨転移の頻度が高く患者数は世界中で莫大な数にのぼる。近年癌治療の進歩により生存期間が延び、その間の QOL が重要になってきた。癌が骨に転移すると骨破壊による痛みと機能障害が生じ QOL が大きく低下する。また高カルシウム血症や骨からの癌細胞の再放出等から、生命予後が短縮する。この癌骨転移に対して有効な治療はなく、革新的な低侵襲の治療法の開発が待望されている。

2. 研究の目的

生体活性付加カーボンが抗破骨細胞薬や抗癌剤の DDS 機能と骨修復の scaffold 機能を兼ねる、全く新しい発想から生まれた癌転移骨治療法を開発する。合目的的に HA 結晶及び生体活性分子をカーボン粒子に付加し、細胞内/膜/外という複数の生体場に多角的・階層的に材料/薬を作用させ、空間的・時間的に生体機能を制御する治療戦略の新規性は高い。本研究により癌の骨転移に苦しむ患者の QOL と生命予後が改善されれば、社会的意義は大きい。

3. 研究の方法

生体活性付加カーボンであるカーボンナノホーン (CNH) とビスホスホネート (BP) の複合体とカーボンファイバー (CF) と抗癌剤 (CDDP) の複合体を設計・作製し、癌転移骨環境で生体活性を発揮させる。すなわち生体活性付加カーボンの階層的な複合体が DDS や scaffold として機能し、骨破壊停止→癌細胞抑制→骨修復促進という一連の反応を空間的・時間的に制御できることを実証する。また、癌転移骨の反応、体内動態、修復骨の代謝等を検討する。これらの生物学的検証結果を随時工学的設計・作製技術にフィードバックして、高機能で安全性の高い生体活性付加カーボンを開発する。

4. 研究成果

(1) カーボンナノホーン (CNH) とビスホスホネート (BP) の複合体の開発

① CNH/BP 複合体の構造・元素分析

がん骨転移環境では破骨細胞の働きが活性化され、骨吸収に伴う疼痛や骨脆弱性の増加、溶解された骨基質成分によりがん細胞が増殖し進展する。そこで破骨細胞をターゲットとして、抗破骨細胞薬であるビスホスホネート (BP) と CNH との複合体 (CNH/BP 複合体) を開発した。リン酸カルシウム (CaP) 過飽和溶液に酸化処理 CNH と BP の一種であるイバンドロネート (IBN) を加え共沈複合化した。得られた CNH/BP 複合体の構造・元素分析を走査電子顕微鏡 (SEM)、走査型透過電子顕微鏡 (STEM) で評価した結果を図 1 に示す。これらの結果から、酸化 CNH 表面に CaP が結晶化しつつ、IBN を複合化させることが明らかになった。

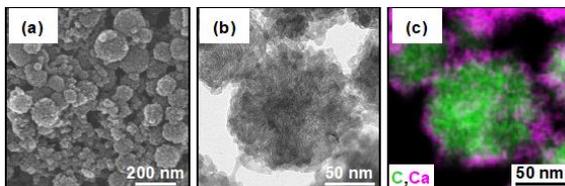


図 1 (a)CNH/BP 複合体の SEM 像、(b)STEM 像、(c)炭素 (C、緑色) とカルシウム (Ca、桃色) の元素分布

② CNH/BP 複合体に対する破骨細胞の細胞応答性評価

マウスマクロファージ様細胞株 (Raw264.7) を 96 ウェルプレートに播種し、24 時間培養後に Receptor activator of NF- κ B ligand を培地に添加し破骨細胞へ分化させた。破骨細胞への分化を確認後、CNH/BP 複合体を暴露し 48 時間後の細胞生存率を Alamar blue assay 評価した (図 2a)。Control 群は蛍光強度を 100% として細胞生存率を評価した。また同一濃度での添加 24 時間後の細胞取り込みを Hoechst33342 (核: 青色)、Cytopainter Lysosomal Staining ab 138895 (リソソーム: 赤色) で蛍光染色し観察した (図 2b)。これらの結果から CNH/BP 複合体は破骨細胞に取り込ま

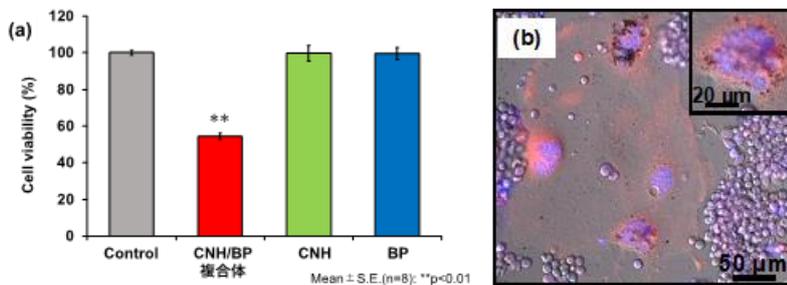


図 2 破骨細胞の細胞生存率と細胞取り込み

(a) CNH/BP 複合体、CNH、BP 添加 48 時間後の破骨細胞の細胞生存率、(b) CNH/BP 複合体添加 24 時間後の蛍光顕微鏡による破骨細胞の細胞取り込み (核: 青色、リソソーム: 赤色、CNH/BP 複合体: 黒色)

れリソソームに蓄積し、BP が徐放される事で破骨細胞に対して細胞抑制効果を発揮したと考えられた。

③ 骨粗鬆症モデルでの骨再生評価

雌性ラット (Wistar、10 週齢) の卵巣を両側摘出し、骨粗鬆症モデルを作製した。十分な骨密度の低下を確認した後、脛骨に骨孔を開けサンプルを注入し動物用 CT で骨再生の状態を評価した。Control 群には生理食塩水を局所注射した。図 3 に、術後 12 週時の動物用 CT での骨組織像の画像 (a~d) と全

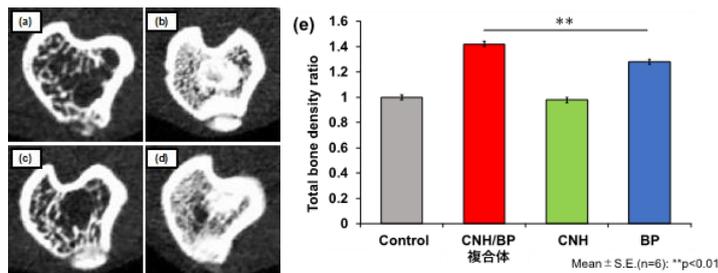


図 3 骨粗鬆症モデルにおける骨再生評価 (a~d) 骨粗鬆症モデルにおける骨再生 (a : Control, b : CNH/BP 複合体, c : CNH, d : BP)、(e) 骨密度の比較

骨密度を比較したグラフ (e) 示した。動物用 CT の画像結果から BP 添加群では骨再生が観察された。BP 単独投与群では再生される骨組織が粗であったのに対し、CNH/BP 群では密な骨組織の再生が観察された。更に、CT データを解析した結果、CNH/BP 群が最も効果的に骨の再生が得られた。この結果は、骨において局所で効率的に作用する治療法の基盤になる可能性を示した。

④ がん骨転移モデルでの骨構造評価

雄性ラット (Wistar、10 週齢) の脛骨に骨孔を作製し、ラット乳がん細胞株 (Walker256) を注入した。がん細胞の定着を確認後、同一孔にサンプルを注入し動物用 CT を用いて骨構造を評価した。Control 群には生理食塩水を局所注射した。図 4 に、術後 4 週時の海面骨密度のグラフ (e) を示した。動物用 CT 画像の結果から、BP 注入群では骨組織構造の破壊が抑えられることが明らかになった。その中で、BP 単独注入群では海面骨構造が粗になったのに対して、CNH/BP 複合体注入群では海面骨構造も十分に保たれていることが明らかになった。動物用 CT データの解析においても、海面骨密度において CNH/BP 複合体注入群が最も高いことが明らかになった。

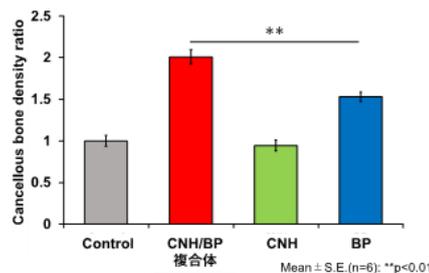


図 4 がん骨転移モデルにおける海綿骨密度の比較

(2) カーボンファイバー (CF) と抗癌剤 (CDDP) の複合体の開発

① CF-CDDP

CF は融解状態の Polyacrylonitrile 高分子に高電圧をかける電界紡糸法で作製した。CF は長さ 400nm で直径 20-100µm であった。密度は 1.7 mg/mm³、炭素純度は 99.1% だった。CF の表面には直径平均 2.79nm の孔が多数開けられた。この CF と CDDP を分散剤とともに攪拌した後、4000rpm で遠心分離を行った。沈殿した CF-CDDP を PBS に再溶解し最後に凍結乾燥させた。表面積は 3253 mm²/g、孔の体積は 2.27 cm³/g、CF と CDDP の質量組成比は 3 : 10 であった (図 5)。

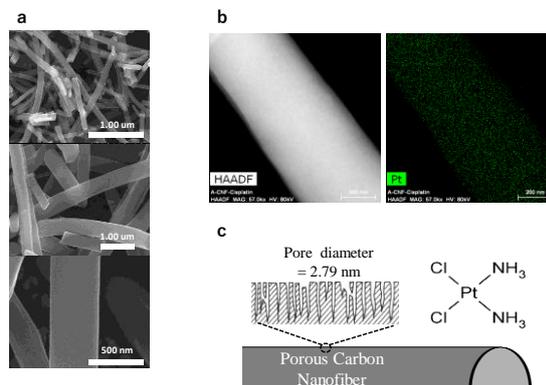


図 5 CF-CDDP の構造と Pt 原子の分布。(a) CF-CDDP は直径 400 nm、長さ 20~100 µm の円柱構造であり線維が絡みあっていた。(b) Pt 原子の表面分布。CF 表面に Pt 原子が均等に分布していた。(c) CF-CDDP の表面には平均 2.79nm の孔が多数開いており、表面、内部に Cisplatin が存在した。

② CF-CDDP の徐放能

透析カセットを用いて CF-CDDP から放出された CDDP の量を誘導結合プラズマ分析法にて測定した。12 時間で約 50%、24 時間で約 70% の CDDP が CF から放出した。CDDP 単独に比べ CF-CDDP の方が緩徐にビーカー内の CDDP 濃度が上昇する傾向を認めた。

③ 細胞増殖能評価

乳癌細胞 walker256 の CF、CDDP、CF-CDDP に対する細胞増殖能を Alamar blue assay にて評価した。day1 では各群で細胞増殖に優位な差はなかった。day4 では CDDP 群、CF-CDDP 群で細胞増殖の抑制が見られ、CF 群は control 群と同等の細胞増殖を認めた。day8 では CF 群は control 群と同等の細胞増殖を認めた。CDDP 群、CF-CDDP 群は癌細胞がほぼ死滅し優位な差は認めなかった。最終的に day8 で CF-CDDP 群、CDDP 群ともに癌細胞は死滅したが、CF-CDDP 群は CDDP 群に比べると緩徐に癌細胞の減少を認めた (図 6)。

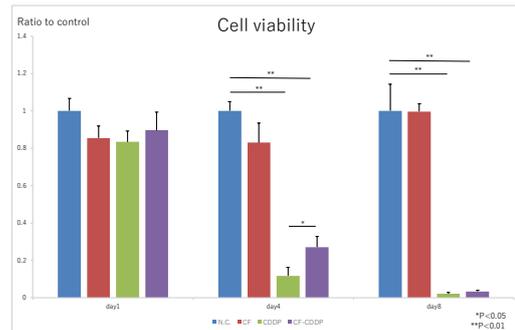


図 6 Cell viability. ラット乳癌細胞 walker256 の細胞増殖能を Alamar blue assay にて評価した (n=5)。CF 群は control 群と同等の癌細胞増殖を認めた。CF-CDDP 群では CDDP 群に比べると緩徐に癌細胞の減少を認めた。最終的には CDDP 群、CF-CDDP 群共に癌細胞はほぼ全て死滅した。

④ 癌抑制効果

乳癌細胞 walker256 をラットの右脛骨に注入した癌骨転移モデルを作製した。2 日後に CDDP 10 mg/kg を同部位に注入した (CDDP i.i. 群)。また、CDDP を同量にそろえた CF-CDDP を同様に右脛骨髄腔内に注入した (CF-CDDP i.i. 群)。一方、同量の CDDP を右外頸静脈より注入した (CDDP i.v. 群)。各群の n=5 とし、2 週間、4 週間で μ CT 撮影を行った。4 週間後に犠牲にし、脛骨正中矢状面にて切離して作製した組織切片を評価した。CDDP i.v. 群は癌の抑制を認めなかった。一方で CDDP i.i. 群、CF-CDDP i.i. 群ではともに癌抑制効果を認めた (図 7a)。脛骨近位正中矢状面における腫瘍面積の測定では CF-CDDP i.i. 群が最も小さな値を示した (図 7b)。 μ CT によるラット脛骨正中矢状面での評価でも同様に CDDP i.v. 群では骨破壊が進行しているのに対し、CDDP i.i. 群、CF-CDDP i.i. 群では明らかな骨破壊は認めなかった。

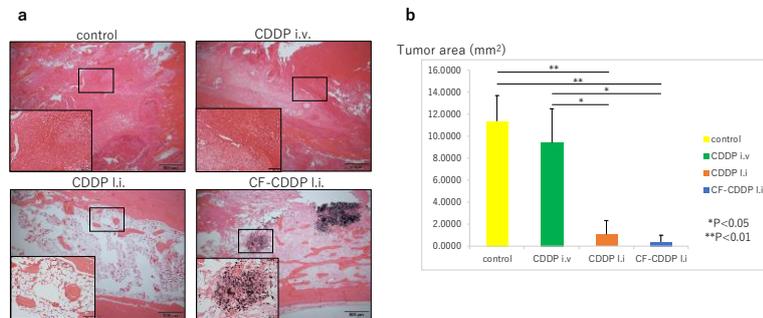


図 7 Cancer suppression effect. (a) 乳癌細胞 walker256 をラット脛骨に注入した癌骨転移モデルの正中矢状面の組織を光学顕微鏡で観察した。Hematoxylin-Eosin 染色。Control 群、CDDP i.v. 群では髄腔内に腫瘍組織が多く占めていた。CDDP i.i. 群では腫瘍組織は少ないが脂肪髄を多く認めた。一方で CF-CDDP i.i. 群では腫瘍細胞、脂肪髄はほとんどなく、CF 周囲に線維性骨組織を多く認めた。(b) ラット脛骨の正中矢状面の組織における癌細胞領域の面積を測定した (n=5)。CDDP i.v. 群は癌の抑制を認めなかった。一方で CDDP i.i. 群、CF-CDDP i.i. 群は共に癌抑制効果を認めた。

⑤ 組織学的評価

control 群、CDDP i.v. 群では髄腔内に腫瘍組織が多く占めていた。両群で明らかな差はなかった。CDDP i.i. 群では control 群に比べて腫瘍組織は少ないが脂肪髄が多くみられた。一方で、CF-CDDP i.i. 群では腫瘍組織や脂肪髄はほとんどみられず、CF 周囲に線維性骨組織を多く認めた。

⑥ 抗癌剤血中濃度

ラット脛骨の癌骨転移モデルの右脛骨に CDDP、CF-CDDP を局所注射した 30 分、120 分後に尾静脈より採血を行った。また右外頸静脈に CDDP を注射した群も同様に 30 分、120 分後に採血を行った (n=5)。投与 30 分後の血中 Pt 濃度は CF-CDDP i.i. 群が最も低く、 $1.0320 \pm 0.4147 \mu\text{g/ml}$ であり、CDDP i.i. 群が $1.6666 \pm 0.6960 \mu\text{g/ml}$ 、CDDP i.v. 群が $2.6380 \pm 1.3187 \mu\text{g/ml}$ であった。投与 120 分後の血中 Pt 濃度は CF-CDDP i.i. 群が $0.7040 \pm 0.6160 \mu\text{g/ml}$ 、CDDP i.i. 群が $0.5040 \pm 0.1280 \mu\text{g/ml}$ 、CDDP i.v. 群が $0.6700 \pm 0.1513 \mu\text{g/ml}$ であった。CF-CDDP i.i. 群では投与 30 分後の血中 Pt 濃度は優位に低く、経時的な変化も最も少なかった。投与後 120 分後の血中 Pt 濃度は各群で優位な差は認めなかった。

⑦ 骨修復能評価

週齢 12 週の健常ラット (wistar, 雌) の左右脛骨近位端より 18G needle で骨孔を作製した。右脛骨には CF を 3.0 mg/kg、50 μ l の PBS と混合して注入した。左脛骨には PBS のみ 50 μ l 注入した。ラット膝関節面より 5 mm 遠位の水平断面で骨孔面積を μ CT で評価した。骨孔面積は 6 週目において CF 群で減少し始めた。しかし 6 週の時点では control 群との差は認めなかった。8 週目において CF 群が control 群に比べて優位な骨孔面積の減少を認めた。

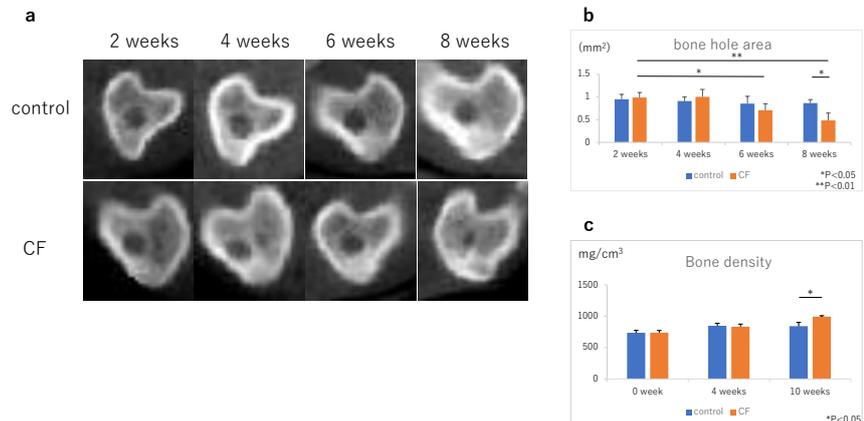


図 8 Bone repair ability. (a) μ CT により骨修復能を膝関節面より遠位 5 mm の axial 像で評価した (n=5)。ラット脛骨に作製した骨孔において CF 群はコントロール群に比べて早期に骨孔面積の減少を認めた。(b) ラット脛骨に作製した骨孔面積を膝関節から遠位 5 mm のレベルで測定した (n=5)。CF 群はコントロール群に比べて早期に骨孔面積の減少を認めた。(c) ラット脛骨近位部の骨密度を膝関節から遠位 5 mm の範囲で測定した (n=5)。10 週目で CF 群はコントロール群に比べ優位に骨密度が高値であった。

⑧ 骨密度

脛骨の膝関節面から 5 mm 遠位までの範囲の骨密度を μ CT で測定した結果は、10 週目で control 群に比べ CF 群で有意に高い骨密度を示した。(図 8)

⑨ 新生骨評価

線維性骨組織 (woven bone) を水色に染色する Masson trichrome 染色を行った。CF-CDDP i.i. 群で明らかに線維性骨組織の面積が大きかった (図 9)。

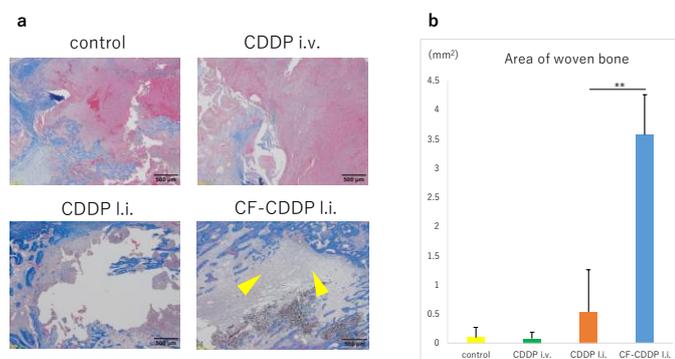


図 9 癌転移骨環境における骨新生. (a) ラット癌骨転移モデル (4 週) の脛骨を正中矢状面で切離し、線維性骨組織 (woven bone) を水色に染色する Masson trichrome 染色を行った。control 群、CDDP i.v. 群、CDDP i.i. 群では明らかな線維性骨組織は認めなかったが CF-CDDP i.i. 群では CF 周囲 (矢頭) に線維性骨組織を多く認めた。(b) 脛骨正中矢状面における線維性骨組織の面積 (n=5)。CF-CDDP i.i. 群では有意に線維性骨組織の面積が大きかった。

(3) 結論

CNH と抗破骨細胞薬である BP を複合化させることにより、BP 単独よりも効果的に細胞・動物に作用する結果が得られた。今後はカーボン材料や BP の種類の検討を含め、最適化を目指し臨床への応用に期待している。また、抗癌剤を複合させた CF の抗癌剤徐放能、癌抑制効果、投与後血中抗癌剤濃度、骨形成能の評価を行った。抗癌剤複合 CF は癌転移骨環境において優位に癌を抑制し、血中に抗癌剤を放出させにくい傾向を示した。カーボンマテリアルの中で比較的サイズの大きい CF は病的骨折を生じた骨髓腔内で留まり、骨修復の足場材となることを示した。高齢化社会で癌骨転移の患者が増える中、本研究が臨床応用されれば患者の QOL と生存期間が延長し、社会的意義が大きいものとなる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakamura Maki, Ueda Katsuya, Yamamoto Yumiko, Aoki Kaoru, Zhang Minfang, Saito Naoto, Yudasaka Masako	4. 巻 13
2. 論文標題 Ibandronate-Loaded Carbon Nanohorns Fabricated Using Calcium Phosphates as Mediators and Their Effects on Macrophages and Osteoclasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces	6. 最初と最後の頁 3701 ~ 3712
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsami.0c20923	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 中村真紀, 湯田坂雅子, 上田勝也, 青木薫, 齋藤直人	4. 巻 39
2. 論文標題 転移性骨腫瘍治療に向けたビスホスホネート内包ナノ複合体の開発	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 バイオマテリアル - 生体材料 -	6. 最初と最後の頁 268 ~ 269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kamanaka Takayuki, Haniu Hisao, Tanaka Manabu, Takizawa Takashi, Aoki Kaoru, Okamoto Masanori, Sobajima Atsushi, Yoshida Kazushige, Ideta Hirokazu, Mimura Tetsuhiko, Ishida Haruka, Ueda Katsuya, Uemura Takeshi, Kim Jin Hee, Kim Yoong Ahm, Kato Hiroyuki, Saito Naoto	4. 巻 10
2. 論文標題 Carbon fibers for treatment of cancer metastasis in bone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 33071 ~ 33079
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0RA05992G	査読の有無 有
オープンアクセス 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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上田勝也, 岡本正則, 鎌仲貴之, 三村哲彦, 出田宏和, 青木薫, 湯田坂雅子, 中村真紀, 羽二生久夫, 齋藤直人
2. 発表標題 Carbon nanohorn-bisphosphonate複合体の材料学的評価および細胞応答性評価
3. 学会等名 第36回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鎌仲貴之, 出田宏和, 傍島淳, 吉田和薫, 滝沢崇, 岡本正則, 青木薫, 金隆岩, 羽二生久夫, 高橋淳, 加藤博之, 齋藤直人
2. 発表標題 カーボンファイバーを用いた癌転移骨の治療
3. 学会等名 第94回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鎌仲貴之, 三村哲彦, 出田宏和, 傍島淳, 吉田和薫, 滝沢崇, 岡本正則, 青木薫, Yoong Ahn Kim, 羽二生久夫, 加藤博之, 高橋淳, 齋藤直人
2. 発表標題 癌転移骨環境における抗癌剤付加カーボンファイバーの評価.
3. 学会等名 第135回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌仲貴之, 出田宏和, 佐々木純, 傍島淳, 吉田和薫, 滝沢崇, 岡本正則, 青木薫, 羽二生久夫, 加藤博之, 齋藤直人.
2. 発表標題 癌転移骨環境における抗癌剤複合carbon fiberの評価.
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田勝也, 傍島淳, 吉田和薫, 鎌仲貴之, 佐々木純, 羽二生久夫, 西村直之, 岡本正則, 青木薫, 齋藤直人.
2. 発表標題 カーボンナノホーンに対する骨関連細胞の細胞応答性評価.
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎌仲貴之, 佐々木純, 傍島淳, 吉田和薫, 滝沢崇, 岡本正則, 青木薫, 羽二生久夫, 齋藤直人, 加藤博之.
2. 発表標題 癌転移骨環境における抗癌剤付加カーボンファイバーの評価.
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ビスホスホネート含有カーボン粒子複合体及びその製造方法	発明者 齋藤直人、青木薫、 上田勝也、湯田坂雅 子、中村真紀	権利者 国立大学法人信 州大学、国立研 究開発法人産業
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-021816	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	手嶋 勝弥 (Teshima Katsuya) (00402131)	信州大学・学術研究院工学系・教授 (13601)	
研究分担者	中村 真紀 (Nakamura Maki) (00568925)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・主任研究員 (82626)	
研究分担者	宇田川 信之 (Udagawa Nobuyuki) (70245801)	松本歯科大学・歯学部・教授 (33602)	
研究分担者	湯田坂 雅子 (Yudasaka Masako) (70159226)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・招聘研究員 (82626)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 義倫 (Sato Yoshinori) (30374995)	東北大学・環境科学研究科・准教授 (11301)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	青木 薫 (Aoki Kaoru) (30467170)	信州大学・学術研究院保健学系・准教授 (13601)	
研究協力者	鎌仲 貴之 (Kamanaka Takayuki) (30791884)	信州大学・リハビリテーション部・診療助教 (13601)	
研究協力者	上田 勝也 (Ueda Katsuya)		
研究協力者	金 隆岩 (Kim Yoong Ahm)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
韓国	Chonnam National University		