

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：14301

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23240072

研究課題名(和文) がん細胞の環境防御機構を標的としたドラッグデリバリーシステム治療戦略

研究課題名(英文) Therapeutic strategy of drug delivery systems utilizing unique tumor environment

研究代表者

橋田 充 (Hashida, Mitsuru)

京都大学・薬学研究科(研究院)・教授

研究者番号：20135594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 38,500,000円、(間接経費) 11,550,000円

研究成果の概要(和文)：がん細胞はその生存・増殖のために、低酸素低栄養といった劣悪な条件に適応し、また宿主の免疫反応を回避するための組織環境を形成している。本研究では、こうした正常組織とは異なるがん組織の特徴に着目しながら、これを破綻させる選択性の高い核酸医薬品を設計し、物理的・化学的手法を組み合わせることで効果的に標的細胞へ送り届けるドラッグデリバリーシステムの技術を駆使して、画期的ながん治療システムの確立を試みた。

研究成果の概要(英文)：Cancer cells establish tumor environment that allows them to resist stressful conditions such as low oxygen and low nutrients and escape host immune responses. The present investigation aimed at developing innovative anti-cancer therapeutic systems with paying attention to the unique characteristics of tumorous tissues from those of normal tissues. To achieve this goal, we focused on nucleic acid drugs with high specificity that can break the resistance systems in cancer, and developed effective delivery systems for the drugs to the target by combination of physical and chemical means.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：ドラッグデリバリー 核酸医療 がん治療 免疫活性化 小胞体ストレス ナノバイオ材料 超音波医学

1. 研究開始当初の背景

がん細胞の増殖にはそれを取り巻く微小環境が重要であり、炎症状態と良く似た、免疫細胞の浸潤、線維芽細胞の増殖、血管新生などが顕著に認められる。こうした組織の形成は細胞外マトリックス分解や増殖因子代謝によって起こり、さまざまな細胞が互いにクロストークしながら、がん組織の形成・成長を促している。例えば、がん間質の線維芽細胞は、がん細胞が産生する TGF- β や PDGF によって遊走・増殖・活性化され、筋線維芽細胞へと分化する一方、分化した筋線維芽細胞は HGF などを産生してがん細胞の増殖を促進する。また、この細胞は、ケモカイン CXCL12 により骨髄から血管内皮前駆細胞を IL-8、MCP-1 によりマクロファージなど炎症細胞を遊走させることも知られている。

申請者は、これまでに、活性酸素消去酵素カタラーゼががん細胞の転移・増殖が抑制されることを見出し、カタラーゼの化学修飾や製剤修飾によりがん転移抑制をさらに増強できることを示した。さらに、これが転写因子 NF- κ B の活性化の抑制によることも証明している。申請者は、この他にも DDS 技術を駆使したがん治療研究に様々取り組み、分化誘導薬など有効な DDS 製剤の開発に成功している。さらに、こうした抗がん剤治療に加え、細胞表面の受容体等をターゲットとした選択的薬物送達や遺伝子導入を可能とするドラッグデリバリーシステムを数多く開発してきた。

2. 研究の目的

本研究では、これまで確立してきた DDS 技術を駆使し発展させ、さらにはがん微小環境の生理に基づいた治療戦略を組み合わせることによって、画期的ながん治療法の確立を試みた。具体的には、微小環境における免疫の活性化という視点から、NF- κ B デコイによる腫瘍関連マクロファージの表現型転換、CpG オリゴ核酸による免疫不活化を取り上げ、それぞれに対して超音波応答性マンノース修飾リポソームの利用、カーボンナノチューブによる光線温熱療法の併用という、物理エネルギーとデリバリー技術の組み合わせによる効果増強を図った。また、低酸素、低栄養環境下での生存のためにがん細胞が獲得しているストレス耐性に着目した核酸医薬治療についても検討した。以下、これらの研究成果について説明する。

3. 研究の方法

NF- κ B デコイによるマクロファージの表現型転換の *in vitro* 評価

5×10^4 cells/cm² で播種後 80%コンフルエントまで培養したがん細胞の培養上清を回収し、これでマウス腹腔より単離したマクロフ

ァージを 24 h 培養した。NF- κ B デコイは lipofectamine 2000 と複合体化し、最終濃度 0.2 μ M となるようにして細胞に 6 h 作用させた。その後がん細胞培養上清に交換し、さらに 18 h 培養した。次に、100ng/mL リポポリサッカライド(LPS)を添加し、定期的に培養上清をサンプリングし、ELISA によりサイトカイン量を測定するとともに、24 h 後には細胞を回収して、mRNA をリアルタイム PCR 法により、核内 NF- κ B 量はウェスタンブロット法により測定した。

超音波応答性マンノース修飾リポソームの調製

マンノース修飾ポリエチレングリコール脂質誘導体(Man-PEG₂₀₀₀-DSPE)は、次のようにして合成した。cyanomethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thiomannoside をメタノール中ナトリウムメトキシドで活性化したのち、溶媒を除去し、ピリジン中で PEG₂₀₀₀-DSPE と反応させた。合成した Man-PEG₂₀₀₀-DSPE と DSDAP、DSPC をモル比 1:2:7 で混合し、薄膜法によりリポソームを調製した。超音波応答性マンノース修飾リポプレックスの調製では、リポソーム溶液に NF- κ B デコイを添加後、PFP ガス加圧下において超音波処理を施すことでパーフルオロプロパン(PFP)の封入を行った。

NF- κ B デコイの超音波応答性マンノース修飾リポプレックスの固形がんモデルマウスにおける機能および治療効果の評価

固形がんモデルは、BALB/c マウスの背部皮下に colon-26 細胞を移植して作成した腫瘍組織から腫瘍関連マクロファージを単離する際には組織摘出後 I 型コラゲナーゼで処理し、磁気細胞分離法により F4/80 陽性細胞を回収した。超音波応答性マンノース修飾リポプレックスを腫瘍組織内に投与し、5 min 後に超音波(周波数 2.0MHz、照射比 50%、バースト周波数 10Hz、強度 4.0W/cm²)を皮膚表面から照射した。5 μ g NF- κ B デコイを含むリポプレックスを腫瘍内に投与、超音波を照射後一定時間後に組織を摘出し、腫瘍関連マクロファージにおける核内 NF- κ B 量をウェスタンブロット法により、各種 mRNA をリアルタイム PCR 法により、腫瘍組織や血漿中のサイトカインを ELISA 法により測定した。治療実験においては、リポプレックス投与および超音波照射を隔日で 5 回行い、腫瘍サイズおよび生存数を経日的に測定した。腫瘍関連マクロファージへの取り込みは、フルオレセイン標識リポソームを作成し、FACS 法により取り込みを評価した。

CpG オリゴ DNA によるがん免疫治療法と光線温熱化学療法の併用

用いた CpG オリゴ DNA および対照の GpC オリゴ DNA を設計し、これを DOTMA とコレステロールからなるカチオン性リポソームと電荷比 3.1 で複合体形成させ、リポプレ

ックスを調製した。5 μ g の CpG オリゴ DNA を含有するリポプレックスを 1 日 1 回 3 日間経鼻投与し、その 24 h 後にルシフェラーゼ遺伝子を発現する colon-26 細胞(colon-26/Luc)を静脈内あるいは腹腔内に注射し、それぞれ肺転移、腹膜転移に対する抑制効果を評価した。NK 細胞およびマクロファージの除去は、マウスにそれぞれウサギ抗アシアロ GM1 血清、 γ -カラギーナンを投与することで行った。

CpG オリゴ DNA と HiPco カーボンナノチューブの複合体は 10:1 の比率で混合し、氷冷下 20 min ソニケーションすることにより調製した。吸収スペクトル、蛍光スペクトルにより分散状態を、原子間力顕微鏡により形態観察を行った。Colon-26 細胞を皮下移植した担がんマウスに、CpG オリゴ DNA 1 μ g 相当の複合体を局所投与し、その 24 h 後から 1 日 1 回 3 日間、近赤外光レーザーを周期 1 min、照射比 50%で 3 周期照射した後、経口的に腫瘍増殖、生存率をモニターした。

GRP78 siRNA リポプレックスによる小胞体ストレス応答の評価

B16BL6 メラノーマ細胞、colon-26 大腸がん細胞、RENCA 腎がん細胞、PAN02 すい臓がん細胞を各種 *in vitro* 実験に供した。用いた GRP78 siRNA は、センス鎖の配列が 5'-GAAU G AAUUGGAAAGCUAUTT-3'のものを用いた。GRP siRNA の細胞内への導入は、次に示すリバーストランスフェクション法により行った。10nM GRP78 siRNA と RNAiMAX を 1:100(v/v)で培養ディッシュで混合し、20min インキュベーションした後、細胞の OptiMEM 懸濁液を加えた。24 h 後、OptiMEM を通常培地と交換し、細胞の増殖を WST-1 アッセイにより評価した。また、GRP78 および各種小胞体ストレスマーカー(CHOP, EDEM1, ERdj4)の mRNA をリアルタイム PCR 法により、GRP78 タンパク質量をウェスタンブロット法により定量した。また、GRP78 siRNA と各種小胞体ストレス誘導剤との併用効果についても評価を行った。GRP78 siRNA をリバーストランスフェクションした RENCA 細胞に対して、3 日後に各種濃度の小胞体ストレス誘導剤を 24 h 作用させ、WST-1 アッセイ法により細胞増殖を評価した。

4. 研究成果

NF- κ B デコイによるマクロファージの表現型転換の *in vitro* 検討

まず、TAM の *in vitro* モデルの確立を行った。マウス腹腔より単離したマクロファージを colon-26 マウス結腸がん細胞の培養上清で培養した後に、LPS によりマクロファージを刺激したところ、IL-12、TNF- α 、IL-6 といった Th1 型サイトカインの産生が顕著に抑制され、逆に Th2 型サイトカインである IL-10 の産生が増大した。同様の傾向は、マウスメラノーマ由来 B16BL6 細胞、マウス脾臓がん

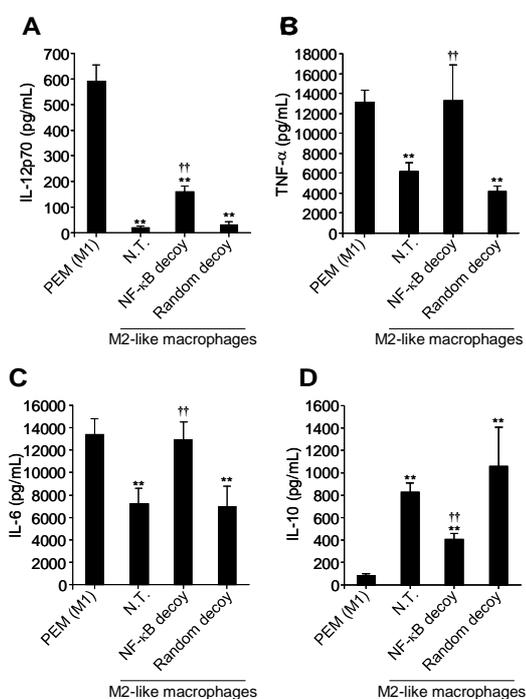


Figure 1. Effect of NF- κ B decoy transfection on LPS-induced cytokine production from M2-like macrophages. The concentrations of IL-12p70(A), TNF- α (B), IL-6(C), and IL-10(D) in culture supernatants were measured by ELISA. ** $P < 0.01$ compared with elicited peritoneal macrophages (PEM). †† $P < 0.01$ compared with non-treated M2-like macrophages (N.T.).

PAN-02 細胞でも観察され、がん細胞培養上清による培養により、マクロファージが M2 様の表現型を示すことが確認された。

NF- κ B デコイは NF- κ B 結合配列をもつ 2 本鎖 DNA であり、細胞質内において活性化した NF- κ B を捕捉する。そこで、先のがん細胞培養上清により表現型転換を図った M2 様マクロファージに対して NF- κ B デコイをリポフェクションし、LPS 刺激によるサイトカイン産生プロファイルを測定した。その結果、IL-12、TNF- α および IL-6 の産生量の有意な増大、とりわけ TNF- α および IL-6 に関してはネイティブの腹腔マクロファージと同程度にまで回復することが確認された。さらに、VEGF、MMP-9、アルギナーゼのいずれの因子でも mRNA の発現が減少することが示された。以上より、がん細胞培養上清により M2 様に分化したマクロファージに対して、NF- κ B デコイは M1 型マクロファージに再分化を誘導することが確認された。

超音波応答性マンノース修飾リポソームによる NF- κ B デコイの腫瘍関連マクロファージへのターゲティング

NF- κ B デコイの *In vivo* での腫瘍関連マクロファージへのターゲティングを目的として、超音波応答性マンノース修飾リポソームを作成した。これは、マクロファージに発現

するマンノース受容体を認識するとともに、超音波照射によりキャビテーション効果を示し、核酸医薬品等を細胞内に直接導入する。この超音波応答性マンノース修飾リポソームと NF- κ B デコイとの複合体をマウスの腫瘍組織内に注入し、超音波を照射する実験を行った。まず、蛍光標識 NF- κ B デコイで組織から単離した腫瘍関連マクロファージへの取り込みを評価したところ、マンノース修飾および超音波照射の組み合わせにより、細胞取り込み量およびそのマクロファージ選択性が増すことが確認された。さらに、両者の組み合わせにより、腫瘍関連マクロファージでの核内 NF- κ B 量の減少、腫瘍組織における TNF- α 、IL-6 の増大および IL-10 の減少、腫瘍関連マクロファージにおける VEGF および MMP-9 mRNA 発現量の減少も確認され、こうした適切なデリバリー技術の利用により、*in vitro* と同様に NF- κ B デコイによる M1 型マクロファージへの表現型転換が実現できることが示された。

超音波応答性マンノース修飾リポソームと NF- κ B デコイの投与による抗腫瘍効果および延命効果の評価を行った。その結果、マンノース残基のないコントロールの超音波応答性リポソームの場合や、マンノース修飾リポソームであっても超音波を照射しなかった場合には、全く腫瘍増殖抑制効果が観察されなかったのに対し、超音波応答性マンノース修飾リポソームと超音波照射を併用した場合には顕著な増殖抑制効果ならびに延命効果も確認された。同様の傾向は、Ehrlich 腹水がんモデルマウスでも観察され、腹水貯留の軽減も含めて本治療法の有効性が確認

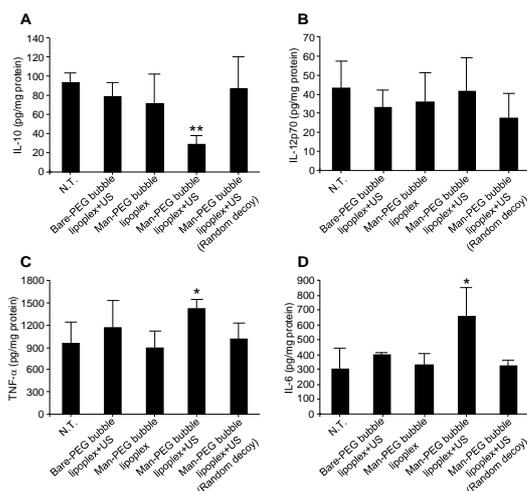


Figure 2. Effect of NF- κ B decoy/Man-PEG bubble lipoplex transfection on cytokine concentrations in tumor tissue. Concentrations of IL-10(A), IL-12p70(B), TNF- α (C) and IL-6(D) were measured at 24 h post-transfection. Five min after local injection of Man-PEG bubble lipoplexes, ultrasound was irradiated to the tumors. * p <0.05; ** p <0.01, compared with non-treatment group (5% glucose).

された。

以上、NF- κ B デコイによる腫瘍関連マクロファージの表現型転換によりがんの増殖を抑制できることができ、がん組織のネットワークをターゲットとした新しいがん治療法の可能性が提示できた。

CpG オリゴ DNA によるがん免疫治療法と光線温熱化学療法との併用

免疫賦活作用を有する CpG オリゴ DNA による粘膜免疫の刺激により、がん治療が達成できるかどうかを検討した。実際に、CpG オリゴ DNA を鼻粘膜にリポフェクションしたところ、colon-26 細胞の肺転移モデルや腹膜播種モデルにおいて有意に転移抑制効果が認められた。さらに、サイトカイン産生や免疫細胞活性化について検討を行ったところ、CpG オリゴ DNA を経鼻投与後、肺組織中および血漿中の IFN- γ レベルが有意に増大し、特にカチオン性リポソームと複合体化することによって顕著な増大が観察された。また、複合体投与により脾臓 NK 細胞、腹腔マクロファージの活性化も認められた。一方、ウサギ抗アシアロ GM1 血清により NK 細胞を除去したマウスでは、CpG オリゴ核酸による転移抑制効果が消失し、NK 細胞が主たる役割を担っていることが明らかとなった。

DNA がカーボンナノチューブ(CNT)と相互作用し可溶化することは以前から知られていた。そこで、CpG オリゴ核酸により CNT を可溶化し、CNT による光線温熱化学療法と CpG オリゴ核酸による免疫化学療法との組み合わせにより、がんの増殖を効果的に抑制する方法について検討した。CpG オリゴ核酸と CNT との複合体を原子間力顕微鏡により

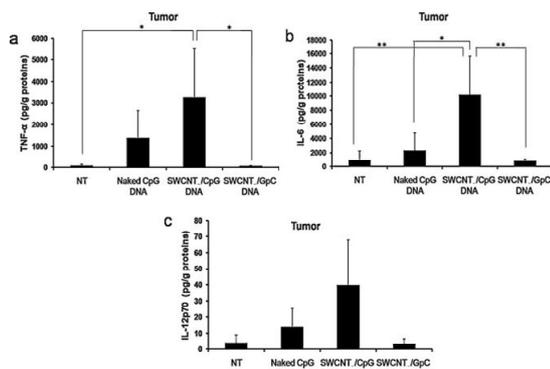


Figure 4. Cytokine productions induced by the SWCNT/CpG DNA complex in tumor tissue. (a) TNF- α production levels in tumor tissues after naked CpG DNA, SWCNT/CpG DNA complex or SWCNT/GpC DNA complex administration. (b) IL-6 production levels in tumor tissues after naked CpG DNA, SWCNT/ CpG DNA complex or SWCNT/GpC DNA complex administration. (c) IL-12p70 production levels in tumor tissues after naked CpG DNA, SWCNT/CpG DNA complex or SWCNT/GpC DNA complex administration.

観察すると直径は 1~4nm であり、CpG オリゴ核酸の添加により CNT は凝集することなく分散することが示された。colon-26 担がんマウスの腫瘍内に複合体を投与し、血中およびがん組織中の TNF- α を測定したところ、いずれも 2 時間後には顕著な TNF- α 産生が認められ、これは CpG オリゴ核酸を単独で投与した場合よりも 2 倍高いレベルであった。さらに、複合体を投与後 24 h 後に近赤外光レーザーを照射したとき、未照射群と比べて 2~3 倍程度の TNF- α の発現が観察され、レーザー照射により相乗的な効果が得られることが示された。さらに腫瘍増殖および延命効果を評価したところ、CpG オリゴ核酸 / CNT 複合体を投与後 24 h 後から 3 日間に渡って 3 回レーザー照射を照射したときには顕著な治療効果が認められた。近赤外光レーザー照射すると CNT が発熱するので、がん細胞が一部ネクローシスを起こすと考えられる。アジュバント効果を有する CpG オリゴ核酸の存在下では、死滅したがん細胞から放出されるタンパク質等を通じて免疫が活性化し、治療効果の増強につながったのではないかと考えられる。

小胞体ストレスをターゲットとしたがん治療に関する基礎的検討

がん組織は低酸素、低栄養状態にあり、小胞体ストレスを受けやすい環境下にあるが、がん細胞にはこれに対する防御機構として GRP78 というシャペロンタンパク質が高発現することが知られてきた。したがって、GRP78 をターゲットとする治療薬は、がんの微小環境の生理に基づくものであり、がん細胞に対して非常に選択性が高いと期待される。そこで、GRP78 の発現を抑制する GRP78 siRNA ががん細胞に対して抗増殖抑制効果を示すかどうかを *in vitro* において検討した。

GRP78 が高発現する腎がん由来 RENCA 細胞に対して GRP78 siRNA をリポフェクションしたところ、細胞増殖抑制効果が観察され、また、小胞体ストレスの活性化指標である CHOP, EDEM1, ERdj4 の mRNA 量が増大し、特にアポトーシス経路の上流シグナルである CHOP が顕著に増大していた。一方、正常細胞である NIH3T3 細胞ではこうした効果は認められず、期待した通り GRP78 siRNA ががん細胞選択的な作用を示すことが明らかとなった。また、複数のがん細胞に対する GRP78 siRNA の効果を調べたところ、RENCA 以外に B16BL6 メラノーマ細胞では顕著な増殖抑制効果が観察された。しかしながら、colon26 大腸がん細胞や PAN02 膵臓がん細胞ではあまり効果が認められなかった。がん種による違いをさらに考察するために、GRP78 遺伝子の発現を調べたところ、必ずしも GRP78 siRNA の基底レベルとの相関は認められず、むしろ GRP78 siRNA によるノックダウン効果と高く相関することが示された。また、CHOP の発現も調べたところ、

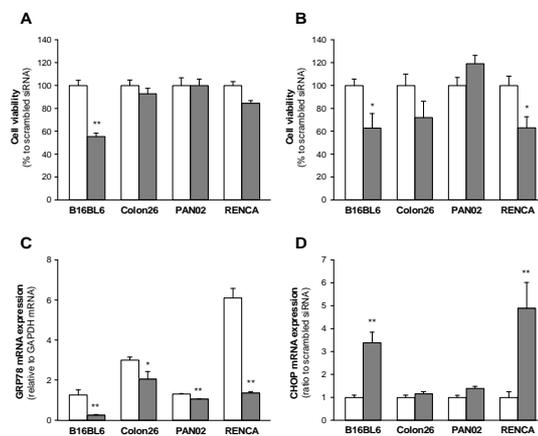


Figure 3. Effect of GRP78 siRNA on cell viability and gene expression in different cell lines. A–B. The viability of the different indicated cell lines was measured by WST-1 assay on days 2 (A) and 4 (B) post-transfection with GRP78 siRNA or scrambled siRNA, respectively. C. Expression of GRP78 mRNA 24 h after GRP78 siRNA transfection. D. Expression of CHOP mRNA at 24 h post GRP78 siRNA transfection. In all figures, gray and white bars indicate GRP78 siRNA and scrambled siRNA, respectively.

GRP78 siRNA による B16BL6 および RENCA では高い誘導が観察されたのに対し、colon26 や PAN02 では認められなかった。以上のことから、GRP78 siRNA のノックダウンによりアポトーシスが誘導されるが、ノックダウン効果にはがん種による差が認められ、これががん細胞増殖抑制に深く関与することが明らかとなった。

GRP78 siRNA に対して感受性の高かった RENCA 細胞を用いて、小胞体ストレス誘導剤との併用効果を検討した。MG132、2-デオキシグルコース、ツニカマイシンの 3 種について検討を行ったところ、いずれにおいても GRP78 siRNA 併用による増殖抑制効果の増強は観察されたが、ツニカマイシンに関しては統計的に有意な交互作用も認められた。このことから、GRP78 siRNA と小胞体ストレス誘導剤の併用は効果的な治療法となり得ることが示された。

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 8 件)

S. Zhou, S. Kawakami, Y. Higuchi, F. Yamashita, M. Hashida, The involvement of NK cells activation following intranasal administration of CpG DNA lipoplex in the prevention of pulmonary metastasis and

peritoneal dissemination in mice, Clin. Exp. Metastasis, 査読有, 29, 2012, 63-70
DOI: 10.1007/s10585-011-9429-1
K. Un, Y. Kono, F. Yamashita, S. Kawakami, M. Hashida, Enhancement of gene expression by transcriptional activation using doxorubicin-loaded liposome/pDNA complexes, Pharmazie, 査読有, 67(5), 2012, 400-405
DOI: 10.1691/ph.2012.1702
K. Un, S. Kawakami, M. Yoshida, Y. Higuchi, R. Suzuki, K. Maruyama, F. Yamashita, M. Hashida, Efficient suppression of ICAM-1 using ultrasound-responsive and mannose-modified lipoplexes inhibits acute hepatic inflammation, Hepatology, 査読有, 56(1), 2012, 259-269
DOI:10.1002/hep.25607
H. Kasai, T. Murakami, Y. Ikuta, Y. Koseki, K. Baba, H. Oikawa, H. Nakanishi, M. Okada, M. Shoji, M. Ueda, H. Imahori, M. Hashida, Creation of pure nanodrugs and their anticancer properties, Angew. Chem. Int. Ed, 査読有, 51, 2012, 10315-10318
DOI:10.1002/anie.201204596
M. Ikemura, M. Nishikawa, K. Kusamori, M. Fukuoka, F. Yamashita, M. Hashida, Pivotal role of oxidative stress in tumor metastasis under diabetic conditions in mice, J. Controlled Release, 査読有, 170(2), 2013, 191-197
DOI:10.1016/j.jconrel.2013.05.028
Y. Kono, S. Kawakami, Y. Higuchi, F. Yamashita, M. Hashida, In vitro evaluation of inhibitory effect of nuclear factor-kappaB activity by small interfering RNA on pro-tumor characteristics of M2-like macrophages, Biol. Pharm. Bull., 査読有, 37(1), 2014, 137-144
DOI:10.1248/bpb.b13-00659
K. Matsumura, C. Sakai, S. Kawakami, F. Yamashita, M. Hashida, Inhibition of cancer cell growth by GRP78 siRNA lipoplex via activation of unfolded protein response, Biol. Pharm. Bull., 査読有, 37(4), 2014, 648-653
DOI:10.1248/bpb.b13-00930
Y. Kono, S. Kawakami, Y. Higuchi, F. Yamashita, M. Hashida, Tumour-associated macrophages targeted transfection with NF-kappaB decoy/mannose-modified bubble lipoplexes inhibits tumour growth in tumour-bearing mice, J. Drug Targeting, 査読有, 2014, in press
DOI:10.3109/1061186x.2014.880443

[学会発表](計11件)

松村一史、川上 茂、山下富義、橋田 充、GRP78 siRNA リポプレックスによるがん細胞アポトーシスの誘導と抗がん剤耐性の克服、日本薬学会第132回年会、

2012年3月30日、北海道大学(北海道) M. Hashida, New Drug Delivery Systems, 3rd International Regulatory Workshop on A to Z on Bioequivalence, 2012年6月4-6日、The Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary
河野裕允、川上 茂、樋口ゆり子、山下富義、橋田 充、NF- κ B を標的とする抑制性オリゴ核酸による癌微小環境中のマクロファージの免疫再賦活化、2012年9月24-26日、仙台市民会館(宮城県)
河野裕允、川上 茂、樋口ゆり子、鈴木 亮、丸山一雄、山下富義、橋田 充、マンノース修飾バブルリポソームを用いたNF- κ B 活性制御による腫瘍関連マクロファージの phenotype 変化、日本薬剤学会第28年会、2013年5月23-25日、ウインクあいち(愛知県)
R. Abdalkader, M. Hashida, S. Kawakami, R. Suzuki, K. Maruyama, Ultrasound triggered doxorubicin loaded microbubbles for effective therapeutic outcomes in melanoma, 第72回日本癌学会学術総会、2013年10月4日、パシフィコ横浜(神奈川県)
河野裕允、川上 茂、鈴木 亮、丸山一雄、橋田 充、Inhibition of tumor growth by NF- κ B decoy transfection into TAM using mannose-modified bubble lipoplexes in mice, 第72回日本癌学会学術総会、2013年10月4日、パシフィコ横浜(神奈川県)

6. 研究組織

(1)研究代表者

橋田 充 (HASHIDA MITSURU)
京都大学・大学院薬学研究科・教授
研究者番号: 20135594

(2)研究分担者

山下 富義 (YAMASHITA FUMIYOSHI)
京都大学・薬学研究科・准教授
研究者番号: 30243041

(3)連携研究者

川上 茂 (KAWAKAMI SHIGERU)
長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 202322307

樋口 ゆり子 (HIGUCHI YURIKO)
京都大学・健康長寿社会の総合医療開発ユニット・講師
研究者番号: 40402797

橋田 泰彦 (HASHIDA YASUHIKO)
京都大学・物質・細胞統合システム拠点・特定研究員
研究者番号: 30512462