

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 3日現在

機関番号：32620

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659102

研究課題名（和文） オートファジー性細胞死のゲノム DNA 断片化に関わる新規 DNase の探索

研究課題名（英文） Searching for novel DNase executing autophagic cell death.

研究代表者

内山 安男 (UCHIYAMA YASUO)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：10049091

研究成果の概要（和文）：

低酸素-脳虚血(H-I) 負荷後のオートファジー性細胞死のゲノム DNA 断片化に関わる核酸分解酵素(DNase)としてDNase IIに着目し、内在性の同酵素を検出できる抗体を作成した。さらに、アポトーシスで働くDNaseであるCAD(Caspase-activated DNase)とDNase IIのダブルノックアウトマウスを用いたH-I負荷後の傷害側海馬組織では依然ゲノムDNA断片化が認められた。

研究成果の概要（英文）：

We focused on DNase II as a candidate DNase executing autophagic cell death after hypoxic-ischemic (H-I) brain injury. To understand the molecular properties of DNase II, particularly the processing, we prepared a polyclonal antibody against mouse DNase II. Furthermore we succeeded in generating double knockout mice lacking both CAD (Caspase-activated DNase) and DNase II (CAD^{-/-}/DNase II mice). Using CAD^{-/-}/DNase II neonatal and adult mice, we examined H-I brain injury and found that DNA laddering was detectable in the ipsilateral hippocampus, indicating nuclear DNA in the damaged neurons was fragmented by a DNase other than CAD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：解剖学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般(含組織学・発生学)

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

私たちはCAD(Caspase-activated DNase)というアポトーシスの最終段階で働く核酸分解酵素(DNase)を欠損させたマウスを用いても低酸素-脳虚血負荷後の神経細胞死について依然「DNAラダー」が認められること、およびオートファジー不能マウスにおいて神経細胞死が著明に抑制されること示した。これは、オートファジー性細胞死においてCAD以外のDNaseが神経細胞死で働いていることを強く示唆している。

2. 研究の目的

どのようなDNaseがオートファジー性細胞死において関与しているのかを検討するため、特にリソソームに存在する代表的な核酸分解酵素であるDNase IIの関与の有無に着目し、遺伝学的検討を行うことを研究目的とする。DNase IIは貪食した細胞(アポトーシス等で死んだ細胞)のDNAの分解に必須なヌクレアーゼであるが、細胞内での分子特性については殆ど知られていなかった。また、in vivoの組織細胞で用いることができるDNase IIの特異抗体も報告されてなかった。そこで

私たちは、マウス DNase II に対する特異的抗体を作製し、DNase II の細胞内分子特性の検討も併せて行う。

3. 研究の方法

(1) DNase II の細胞内分子特性の検討

リコンビナントマウス DNase II タンパク質をウサギに接種し DNase II に対する特異的抗体を作成した。抗体の特異性は DNase II 欠損マウス脾臓や骨髄組織を用いた免疫組織化学とウエスタンブロットにて検討した。さらに脾臓組織の凍結超薄切片を用いて免疫電顕を行った。DNase II-Flag-His を発現させた Cos-1 細胞を作成し、細胞分画やプロセッシングの検討を行った。

(2) CAD と DNase II のダブルノックアウトマウスの作成

CAD 欠損マウスと胎生致死を免れることが知られている DNase II とインターフェロン (IFN) β の受容体である Type I-IFNR 遺伝子とともに欠損するダブルノックアウトマウスを交配し、CAD と DNase II を共に欠損するマウス (CAD^{-/-}/DNase II^{-/-}マウス) を得た。

(3) 低酸素-脳虚血 (H-I) 負荷後の海馬組織における DNA 断片化の検討

生後 7 日齢および 2 ヶ月齢の CAD^{-/-}/DNase II^{-/-}マウスを用いて、左総頸動脈を結紮後、8%酸素 92%窒素の環境下に 25-30 分暴露後 H-I 負荷を行い、1 日後に採取した健常側と傷害側由来の海馬組織よりゲノム DNA を抽出した。DNA 断片化を効率良く検出するため、DNA に linker を結合した後 PCR を行う Ligation-mediated PCR 法にて DNA ラダーの検出を行った。

4. 研究成果

(1) DNase II の細胞内分子特性の検討

リコンビナント DNase II を抗原として、マウス DNase II の抗体を作製した。野生型マウスを用いて検討したところ DNase II は脾臓と骨髄に発現が比較的に高かった。一方 DNase II 欠損マウスの脾臓や骨髄を用いた免疫組織化学では陽性反応が認められなかったことから作成した抗体は DNase II 特異的であることが明らかとなった。次いで DNase II の細胞内局在を蛍光二重染色法、免疫電顕にて検討した。DNase II は脾臓と骨髄における、CD68 陽性のマクロファージ/単球に分布して、lamp1 陽性のリソソームに局在が認められた (図 1)。細胞分画法とウエスタンブロットによ検討を行ったところ、内在性の DNase II は cDNA から予想される分子量は 45 kDa であるにもかかわらず、細胞内では 30 kDa と 23 kDa の分子型で存在することが明らかとなった。細胞分画ではミクロソーム分画では 45 kDa、リソソームで 23 kDa と 30 kDa が検出された。このことは、45 kDa の前駆体が、リソソームで 30 kDa と 23 kDa にプロセッシングされることを示唆する (図 2)。

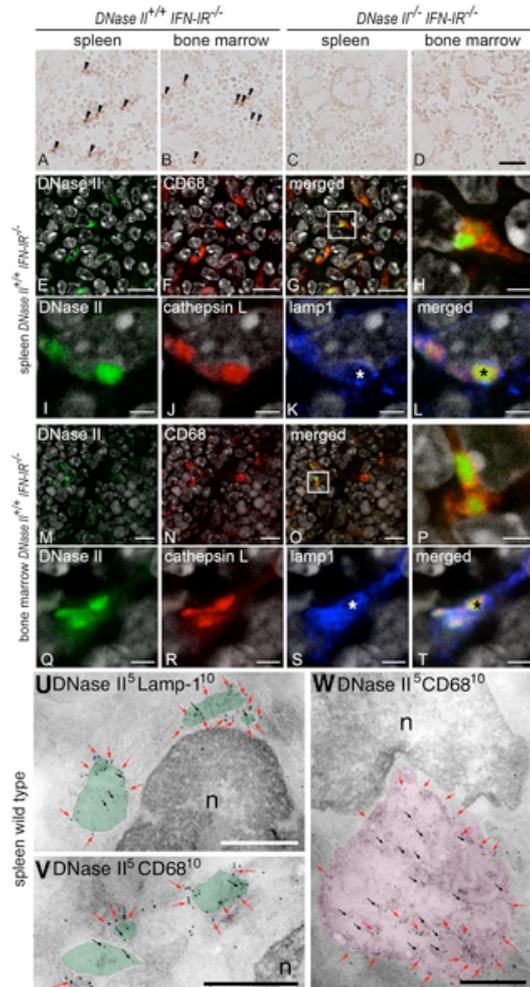


図 1 (A-D) 対照群欠損マウスでは抗 DNase II 抗体に対する免疫陽性反応が認められるが、DNase II 欠損マウスでは陽性反応が認められなかった。(E-T) マウス脾臓 (E-L)、骨髄 (M-T) では DNase II が CD68 陽性マクロファージのリソソーム内のカテプシン L と強局在することが明らかとなった。(U-W) 免疫電顕ではマウス脾臓におけるマクロファージの lamp1 ないし CD68 陽性のリソソーム/ファゴリソームに DNase II 陽性の反応が認められた。

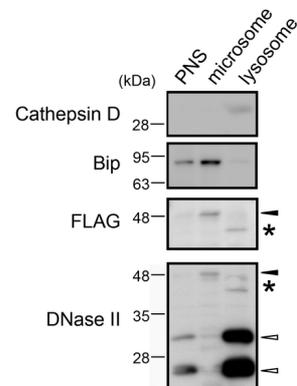


図 2 DNase II-Flag-His を発現させた Cos-1 細胞を用いた細胞分画による内在性および DNase II-Flag-His の分布

プロセッシング酵素を同定するため DNase II-Flag-His 発現 Cos-1 細胞に様々なプロテアーゼの阻害剤を添加してプロセッシングの阻害の有無を検討した結果、カテプシン B や L の阻害剤である E-64 を添加すると、23kDa のものは検出されず、30 kDa のみが認められた。さらに肝臓と脾臓で ConA 分画を採取して調べたところ、野生型マウス由来の組織では 23 kDa と 30 kDa の分子型が検出されたが、カテプシン L を欠損した肝臓では 23 kDa の分子は検出できなかったが、カテプシン B や D の欠損マウスでは依然検出された。この結果は、肝臓ではカテプシン L は一本鎖 DNase II のプロセッシングに関与することを示している (図 3)。

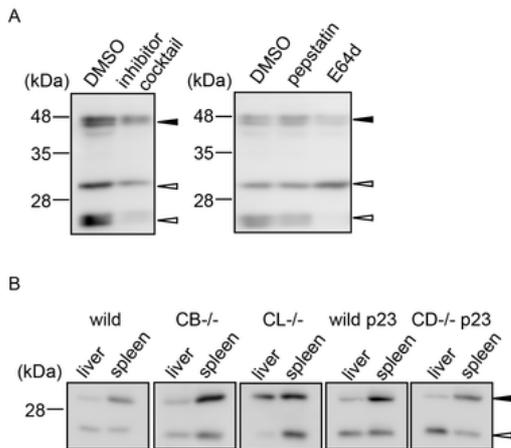


図 3 in vitro (DNase II-Flag-His 発現 Cos-1 細胞) (A) および in vivo (野生型およびカテプシン B、L、D 欠損マウス肝臓、脾臓) を用いた DNase II のプロセッシングの検討

さらに、DNase II-Flag-His 発現 Cos-1 細胞の培養上清は、45 kDa の前駆体が分泌されているが、この前駆体 DNase II は、pH の低い所では活性を有するが、中性領域では活性がないことが明らかになった。このことはプロセッシングを受けずとも、pH が下がるだけで、活性部位が開いて DNA 分解能が生じることを示唆している。

(2) CAD および DNase II ダブルノックアウトマウスを用いた検討

CAD 欠損マウスと胎生致死を免れることが知られている DNase II とインターフェロン (IFN) β の受容体である Type I-IFNR 遺伝子とともに欠損するダブルノックアウトマウスを交配し、CAD と DNase II を共に欠損するマウス (CAD^{-/-}DNase II^{-/-}マウス) を得た。CAD^{-/-}DNase II^{-/-}マウスは出生時より他の遺伝子型のマウスより体のサイズが小さいが、少なくとも生後 10 週まで生存することが分かった。低酸素-脳虚血 (H-I) 負荷を行う生後 10 日前後までは生存した。生後 7 日齢の CAD^{-/-}DNase II^{-/-}、CAD^{+/+}DNase II^{-/-}、CAD^{+/+}DNase II^{+/+}マウスを用いて H-I 負荷

を行い、1 日後に採取した健常側と傷害側由来の海馬組織より抽出したゲノム DNA を用いて Ligation-mediated PCR (LMPCR) 法によって DNA 断片化を検討した。新生仔マウスにおいては CAD^{+/+}DNase II^{+/+}マウスでは、健常側と傷害側ともに DNA ラダーが観察されたが、その程度は後者の方が強かった。CAD^{+/+}DNase II^{-/-}マウスにおいても CAD^{+/+}DNase II^{+/+}マウスと同様の傾向を示した (図 4)。

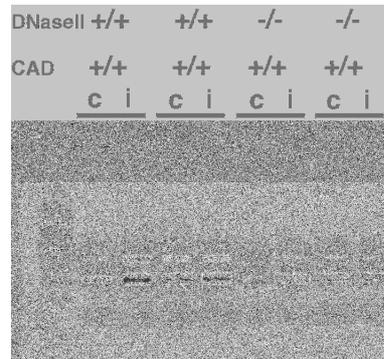


図 4 生後 7 日齢の CAD^{+/+}DNase II^{+/+}および同腹仔の CAD^{+/+}DNase II^{-/-}マウスにおける DNA ラダーの検討 (c; 健常側、i; 障害側)

一方、CAD^{-/-}DNase II^{-/-}マウスでは健常側の DNA ラダーは全く認めなかったが、傷害側においては DNA ラダーが依然認められた。健常側で見られる DNA ラダーは海馬錐体細胞のプログラム細胞死を反映しており、海馬錐体細胞のプログラム細胞死は CAD に依存するが DNase II に依存しないことが示唆された。一方、患側の H-I 負荷に伴う海馬錐体細胞の細胞死は DNase II、CAD のいずれにも依存せず、未知の DNase が関与していることが示唆された (図 5)。

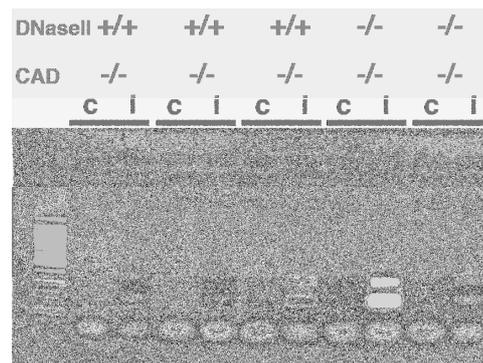


図 5 生後 7 日齢の CAD^{-/-}DNase II^{+/+}および同腹仔の CAD^{-/-}DNase II^{-/-}マウスにおける DNA ラダーの検討 (c; 健常側、i; 障害側)

成獣マウスを用いた H-I 負荷後の海馬組織を用いて同様に検討したところ、CAD^{-/-}DNase II^{+/+}および CAD^{-/-}DNase II^{-/-}マウスの健常側では DNA ラダーが認められなかったが、傷害側において DNA ラダーが認められた。上記結果は成獣マウスにおける H-I

負荷に伴う海馬錐体細胞の細胞死も新生仔のそれと同様に DNase II、CAD のいずれにも依存せず、未知の DNase が働く可能性が示唆している (図 7)。

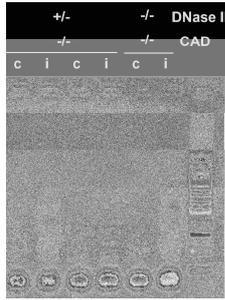


図 7 生後 8 週齢の CAD^{-/-}DNase II^{+/-}および同腹仔の CAD^{-/-}DNase II^{+/+}マウスにおける DNA ラダーの検討 (c; 健常側、i; 障害側)

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 21 件)

- ① Koike, M., Tanida, I., Nanao, T., Tada, N., Iwata, J., Ueno, T., Kominami, E., Uchiyama, Y. Enrichment of GABARAP relative to LC3 in the axonal initial segments of neurons. *PLoS One* 8(5):e63568, 2013. (*These authors contributed equally to this work)
- ② Matsui, H., Sato, F., Sato, S., Koike, M., Taruno, Y., Saiki, S., Funayama, M., Ito, H., Taniguchi, Y., Uemura, N., Toyoda, A., Sakaki, Y., Takeda, S., Uchiyama, Y., Hattori, N., Takahashi, R. ATP13A2 deficiency induces a decrease in cathepsin D activity, fingerprint-like inclusion body formation, and selective degeneration of dopaminergic neurons. *FEBS letters* 587(9):1316-25, 2013. (*These authors contributed equally to this work)
- ③ Ohkouchi, S., Shibata, M., Sasaki, M., Koike, M., Saftig, P., Peters, C., Nagata, S., Uchiyama, Y. Biogenesis and proteolytic processing of lysosomal DNase II. *PLoS One* 8(3):e59148, 2013.
- ④ Koike, M., Shibata, M., Ezaki, J., Peters, C., Saftig, P., Kominami, E., Uchiyama, Y. Differences in expression patterns of cathepsin C/dipeptidyl peptidase I in normal, pathological and aged mouse central nervous systems. *Eur. J. Neurosci.* 37(5):816-20, 2013.
- ⑤ Furuta, A., Wakabayashi, K., Haratake, J., Kikuchi, H., Kabuta, T., Mori, F., Tokonami, F., Katsumi, Y., Tanioka, F., Uchiyama, Y., Nishino, I., Wada, K. Lysosomal storage and advanced senescence in the brain of LAMP-2-deficient Danon disease. *Acta Neuropathol.* 125(3):459-461, 2013.
- ⑥ Hayakawa, N., Shiozaki, M., Shibata, M., Koike, M., Uchiyama, Y., Gotow, T. Resveratrol affects undifferentiated and differentiated PC12 cells differently, particularly with respect to possible differences in mitochondrial and autophagic functions. *Eur. J. Cell Biol.* 92(1):30-43, 2013.
- ⑦ Piao, X., Komazawa-Sakon, S., Nishida, T., Koike, M., Piao JH., Ehlken, H., Kurihara, H., Hara, M., van Rooijen, N., Schütz, G., Ohmuraya, M., Uchiyama, Y., Yagita, H., Okumura, K., He YW., Nakano, H. c-FLIP maintains tissue homeostasis by preventing apoptosis and programmed necrosis. *Sci. Signal* 5 (255); ra93, 2012.
- ⑧ Tashiro Y.*, Urushitani, M.*, Inoue, H., Koike, M., Uchiyama, Y., Komatsu, M., Tanaka, K., Yamazaki, M., Abe, M., Misawa, H., Sakimura, K., Ito, H., Takahashi, R. Motor neuron-specific disruption of proteasomes, but not autophagy, replicates amyotrophic lateral sclerosis. *J. Biol. Chem.* 109(43):42984-94, 2012. (*These authors contributed equally to this work)
- ⑨ Imaizumi, Y., Okada, Y., Akamatsu, W., Koike, M., Kuzumaki, N., Hayakawa, H., Nihira, T., Kobayashi, T., Ohyama, M., Sato, S., Takanashi, M., Funayama, M., Hirayama, A., Soga, T., Hishiki, T., Suematsu, M., Yagi, T., Ito, D., Kosakai, A., Hayashi, K., Shouji, M., Nakanishi, A., Suzuki, N., Mizuno, Y., Mizushima, N., Amagai, M., Uchiyama, Y., Mochizuki, H., Hattori, N., Okano, H. Mitochondrial dysfunction with increased oxidative stress and α -synuclein accumulation in PARK2 iPSC-derived neurons and postmortem brain. *Molecular Brain* 5(1):35, 2012.
- ⑩ Klionsky, D.J. and 1428 authors. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. *Autophagy* 8(4) 445-544; 2012.
- ⑪ Unno, T., Wakamori, M., Koike, M., Uchiyama, Y., Ishikawa, K., Kubota, H., Yoshida, T., Sasakawa, H., Peters, C., Mizusawa, H., Watase, K. The development of Purkinje cell degeneration in a

- knockin mouse model reveals lysosomal involvement in the pathogenesis of SCA6. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109(43):17693-8, 2012.
- ⑫ Sekine, S., Kanamaru, Y., Koike, M., Nishihara, A., Okada, M., Kinoshita, H., Kamiyama, M., Maruyama, J., Uchiyama, Y., Ishihara, N., Takeda, K., Ichijo, H. Rhomboid protease PARL mediates the mitochondrial membrane potential loss-induced cleavage of PGAM5. J. Biol. Chem. 287(41):34635-45, 2012.
- ⑬ 小池正人、内山安男。「神経性セロイドリポフスチン蓄積症における”異常なリソソーム”のオートファジーによる処理」生体の科学 63(5): 404-5; 2012.
- ⑭ Nori, S., Okada, Y., Yasuda, A., Tsuji, O., Takahashi, Y., Kobayashi, Y., Fujiyoshi, K., Koike, M., Uchiyama, Y., Ikeda, E., Toyama, Y., Yamanaka, S., Nakamura, M., Okano, H. Grafted human induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promotes motor functional recovery after spinal cord injury in mice. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 108(40): 16825-30, 2011.
- ⑮ Uchida, Y., Hasegawa, J., Chinnapen, D., Inoue, T., Okazaki, S., Kato, R., Wakatsuki, S., Misaki, R., Koike, M., Uchiyama, Y., Iemura, S., Natsume, T., Kuwahara, R., Nakagawa, T., Nishikawa, K., Mukai, K., Miyoshi, E., Taniguchi, N., Sheff, D., Lencer, W.I., Taguchi, T., Arai H. Intracellular phosphatidylserine is essential for retrograde membrane traffic through endosomes. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 108(38): 15846-51, 2011.
- ⑯ Koyanagi, M., Asahara, S., Matsuda, T., Hashimoto, N., Shigeyama, Y., Shibutani, Y., Kanno, A., Fuchita, M., Mikami, T., Hosooka, T., Inoue, H., Matsumoto, M., Koike, M., Uchiyama, Y., Noda, T., Seino, S., Kasuga, M., Kido, Y. Ablation of TSC2 enhances insulin secretion by increasing the number of mitochondria through activation of mTORC1. PLoS One 6(8): e23238, 2011.
- ⑰ Shiozaki, M., Hayakawa, N., Shibata, M., Koike, M., Uchiyama, Y., Gotow, T. Closer association of mitochondria with lipid droplets in hepatocytes and activation of Kupffer cells in resveratrol-treated senescence-accelerated mice. Histochem. Cell Biol. 136(4): 475-89, 2011.
- ⑱ Kuwahara, Y., Oikawa, T., Ochiai, Y., Roudkenar, M.H., Fukumoto, M., Shimura, T., Ohtake, Y., Ohkubo, Y., Mori, S., Uchiyama, Y., Fukumoto, M. Enhancement of autophagy is a potential modality for tumors refractory to radiotherapy. Cell Death Dis. 2(6):e177, 2011
- ⑲ 内山安男、小池正人。「リソソームプロテアーゼの多様性とその病態生理学的役割」実験医学増刊号 29(12): 1903-1908; 2011.
- ⑳ 内山安男「虚血性細胞死とオートファジー」神経内科 75(2):169-175, 2011
- ㉑ 内山安男「脂肪滴とオートファジー」内分泌・糖尿病・代謝内科 33(4): 338-343, 2001 [学会発表] (計 18 件)
- ① 小池正人、内山安男、第 34 回日本神経科学大会、カテプシン D 欠損に伴う神経性ロイドリポフスチン蓄積症の病態形成にオートファジーが果たす役割について、2011 年 9 月 15 日、パシフィコ横浜
- ② 砂堀毅彦、小池正人、内山安男、第 34 回日本神経科学大会、虚血性侵襲に対するヒアルロン酸 4 糖の神経細胞保護効果の検討、2011 年 9 月 17 日、パシフィコ横浜
- ③ Koike, M., Uchiyama, Y. Possible roles of LC3, ubiquitin, and P62 and/or Nbr1 in the accumulation of lysosomes in neurons deficient in Cathepsin D. 41st Annual Meeting Society for Neuroscience, 2011 年 11 月 13 日、ワシントン・コンベンション・センター
- ④ Sunabori, T., Koike, M., Uchiyama, Y. Protective effects of hyaluronan tetrasaccharide on hippocampal pyramidal neurons in neonatal mouse brains after hypoxic-ischemic injury. 41st Annual Meeting Society for Neuroscience, 2011 年 11 月 13 日、ワシントン・コンベンション・センター
- ⑤ 小池正人、山口隼司、内山安男、第 17 回グリアクラブ、カテプシン BD ダブルノックアウトマウスの中枢神経系の形態学的解析、2013 年 3 月 1 日、ヒルトンニセコビルリッジ
- ⑥ 小池正人、内山安男、第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会、正常および老齢マウス脳におけるリソゾームカテプシン C の分布、2011 年 3 月 27 日、山梨大学甲府キャンパス
- ⑦ 多村博澄、佐々木光穂、小池正人、内山安男、第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会、ほ乳類 Atg9AmRNA ノックダウン HeLa 細胞について/A study on Atg9AmRNA-knockdown HeLa cells, 2011 年 3 月 27 日、山梨大学甲府キャンパス
- ⑧ 鈴木ちぐれ、砂堀毅彦、佐々木光穂、多村博澄、小池正人、内山安男、第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会、腎虚血尿

細管傷害におけるオートファジー・リソソーム系の関わりについて、2011年3月28日、山梨大学甲府キャンパス

- ⑨ Sunabori, T., Koike, M., Uchiyama, Y. 第117回日本解剖学会総会・全国学術集会、Protective effects of hyaluronan tetrasaccharide on hippocampal pyramidal neurons in neonatal mouse brains after hypoxic-ischemic injury. 2011年3月28日、山梨大学甲府キャンパス
- ⑩ Sunabori, T., Koike, M., Uchiyama, Y. 第117回日本解剖学会総会・全国学術集会、Protective effects of hyaluronan tetrasaccharide on hippocampal pyramidal neurons in neonatal mouse brains after hypoxic-ischemic injury. 2011年3月28日、山梨大学甲府キャンパス
- ⑪ Koike, M., Uchiyama, Y. 14th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry. Different expression patterns of cathepsin C/dipeptidyl peptidase I in normal, pathological and aged central nervous system of mice. 2012年8月29日、京都国際会議場
- ⑫ 砂堀毅彦、小池正人、内山安男、第35回日本神経科学大会、ヒアルロン酸4糖は低酸素/脳虚血負荷依存性にToll様受容体2/4の活性化を抑制することで海馬錐体細胞に神経保護効果を示す、2012年9月18日、名古屋国際会議場
- ⑬ 小池正人、内山安男、第35回日本神経科学大会、正常・高齢・各種傷害時のマウス脳におけるリソソームカタペプシンCの分布、2012年9月21日、名古屋国際会議場
- ⑭ Koike, M., Uchiyama, Y. Different expression patterns of cathepsin C/dipeptidyl peptidase I in normal, pathological and aged central nervous system of mice. 42nd Annual Meeting Society for Neuroscience, 2012年10月15日、ニューオーリンズ
- ⑮ Koike, M., Shibata, M., Sunabori, T., Sakimura, K., Uchiyama, Y. Genetic dissection of the role of cathepsin D in mouse central nervous system. 6th International Symposium on Autophagy, 2013年10月28日、万国津梁館
- ⑯ 小池正人、柴田昌弘、砂堀毅彦、崎村健司、内山安男、第118回日本解剖学会総会・全国学術集会、Characteristic differences between Purkinje cells specifically deficient in cathepsin D and Atg7, 2013年3月28日、サンポートホール高松、かがわ国際会議場

⑰ 七尾友久、小池正人、山口隼司、砂堀毅彦、佐々木光穂、内山安男、第118回日本解剖学会総会・全国学術集会、初代培養神経細胞の成熟過程におけるリソソームの局在動態について、2013年3月28日、サンポートホール高松、かがわ国際会議場

⑱ 山口隼司、佐々木光穂、小池正人、七尾友久、砂堀毅彦、内山安男、第118回日本解剖学会総会・全国学術集会、軸索終末部に置けるAtg9Aを含む小胞の膜成分の精製および解析、2013年3月28日、サンポートホール高松、かがわ国際会議場

〔図書〕(計3件)

- ① Uchiyama Y, Kominami E (2013) Autophagy regulates lipid droplet formation and adipogenesis. In: Lipid metabolism. Ed by Rodrigo Valenzuela Baez. InTech, Chapter 7, pp149-162
- ② Komatsu M, Koike M, Ichimura Y, Uchiyama Y (2012) Genetic mouse models for elucidation of autophagy-lysosomal systems in neurons under physiologic and pathologic conditions. In Ed. Zhenyu yue, Charleen T Chu: Autophagy of the nervous system - Cellular self-digestion in neurons and neurological diseases. World Scientific, Chapter 8, pp175-204
- ③ 小池正人、内山安男。「リソソーム内の分解機構」オートファジー 生命をささえる細胞の自己分解システム (水島昇・吉森保編集) (化学同人), 67-76, 2012.

〔その他〕

ホームページ等

http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/shinkei_kozo/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内山 安男 (UCHIYAMA YASUO)
順天堂大学・医学部・教授
研究者番号：10049091

(2) 研究分担者

小池 正人 (KOIKE MASATO)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：80347210
佐々木 光穂 (SASAKI MITSUHO)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：20432536
砂堀 毅彦 (SUNABORI TAKEHIKO)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：00407115
鈴木 ちぐれ (SUZUKI CHIGURE)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：40536629