

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380161

研究課題名(和文) プロラクチン受容体の選択的スプライシングによる黄体の運命決定機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of the corpus luteum-life span via alternative splicing of prolactin receptors

研究代表者

米澤 智洋 (Yonezawa, Tomohiro)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：10433715

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：成熟雌ラットの性周期各時期に卵巣を摘出し、プロラクチン受容体ロングフォーム、ショートフォームについてリアルタイムPCRおよびウェスタンブロットを行ったところ、黄体退行の始まる時期である発情休止期の午後に、ロングフォームとショートフォームの発現比率がRNA・タンパクレベルで逆転した。そこでロングフォームの発現のみを抑制するスプライシング切替オリゴマーを持続的に投与し、血中性ステロイド濃度の測定を行ったところ、薬剤用量依存的に発情休止期の延長がみられた。以上より、ロングフォームが黄体の機能、および寿命の決定に中心的な関わりをもつことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Our focus is on expression of the different forms of the prolactin receptor (PRLR). In the mouse and rat, there is one long form and three short forms of the receptor. To investigate the role of the long form of the receptor in a physiologically normal animal as a function of expression level, we have developed a small molecule designed to specifically knock down expression of the long form PRLR (LF-PRLR), Antimaia. Vaginal smears established regular estrous cyclicity prior to administration of Antimaia by subcutaneous minipump at. As a result, diestrus was extended in a dose-related fashion from 2-5 days. Analysis of LF-PRLR mRNA by real-time PCR showed a dose-related decrease in expression in the ovary, with no detectable expression at the high dose. Knockdown of the LF-PRLR resulted in a dose-related decrease in circulating estrogen and an increase in progesterone and prolactin.

研究分野：獣医生理学

キーワード：繁殖生物学 プロラクチン 選択的スプライシング シグナル伝達 性周期

1. 研究開始当初の背景

黄体の機能不全や退行遅延などを起因とする卵巣周期の障害は、ウシでは年間約 20 万件、小動物臨床では約 4 万件の来院数が報告されており、獣医療領域において深刻な問題である。応募者は、分子生物学的な知見の豊富なラットおよびマウスをモデル動物として、黄体の寿命の決定機構を解明し、卵巣周期障害を根治することを企図して研究を行っている。

ラットの黄体では、形成から 3 日目にあたる発情休止期 2 日目の午前までにプロラクチン (PRL) の刺激を受けると機能化するが、同日の午後以降に同じ刺激があっても、黄体はもはや機能化することなく、逆にアポトーシスを起こして退行する。この現象はすなわち、発情休止期 2 日目午後、黄体の PRL 感受性が変化して、黄体の運命が変更されることを意味している。しかし、この黄体の機能変化が何によってもたらされているのかは解っていない。

応募者はこれまでに、退行が決定する時期である発情休止期 2 日目午後黄体において、ゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) の転写活性が増加すること、GnRH の拮抗阻害薬を卵巣内に局所的に投与すると、GnRH シグナルのマーカースタンパク質であるアネキシン A5 (Anxa5) と、アポトーシス細胞 (TUNEL 陽性細胞) が消失することを見出した。これらの結果は、黄体に発現する GnRH の時期特異的な増加が、黄体組織のリモデリングに必須であることを示唆している。

さらに応募者は、GnRH の作用によって、黄体の PRL 受容体アイソフォームの発現比率が Short form 主体から Long form 主体に変化することを見出した。PRL 受容体には選択的スプライシングにより形成される Long form と Short form の 2 種類が知られており、それぞれ異なるシグナル伝達経路をもつと考えられる。従って、これらの成果は、黄体の運命決定が、黄体の GnRH による PRL 受容体の選択的スプライシング制御機構による可能性を示している。

2. 研究の目的

そこで本研究では、末梢の GnRH がもたらす PRL 受容体アイソフォームの選択的スプライシングの制御機構と、そのシグナル伝達および生理作用を分子レベルで明らかにするとともに、これを応用した卵巣周期障害の治療に挑戦することとした。

具体的には、 : PRL 受容体アイソフォームの詳細な発現動態の観察、 : PRL 受容体アイソフォームの発現変化が細胞機能に与え

る影響の解析、 : 本成果をもとにした卵巣周期障害ラットの作出とレスキュー、の 3 つの実験に挑戦した。

3. 研究の方法

実験 : PRL 受容体アイソフォームの詳細な発現動態の観察

成熟雌ラット、雌マウスの性周期黄体、偽妊娠各時期における黄体を採取し、PRL 受容体アイソフォームおよびそれぞれのシグナル伝達因子の発現を、Real-time RT-PCR, Western blot, 免疫組織化学染色などを用いて観察した。

またこの結果を裏付けるために、応募者が確立したラット黄体の器官培養系を用いて、GnRH に刺激されたときのこれらの因子の変化を観察した。GnRH の刺激が十分かどうかは、応募者が発見した GnRH シグナルのバイオマーカーである AX5 の発現量を調べることで確認できる。

実験 : PRL 受容体アイソフォームの発現変化が細胞機能に与える影響の解析

成熟雌ラット、マウスの卵巣内にスプライシング切替オリゴマーを *in vivo* トランスフェクションし、特定の PRL 受容体アイソフォームをノックダウンすることでアイソフォーム特異的な生理機能を解析した。黄体期持続期間、PRL 感受性、ゴナドトロピン感受性、プロジェステロン産生能、黄体中アポトーシスシグナルの変化について、血中ホルモン濃度の測定や免疫組織化学染色などを行い詳細に観察した。

スプライシング切替オリゴマーは、エクソン・イントロンの切り替わり領域に相補的に結合するオリゴマーを導入して、特定のスプライシング・バリエーションの産生を特異的に抑制するオリゴマーである。これを用いて、*in vivo* での効率よいノックダウンに挑戦した。この実験では、投薬量を減らすためにマウスを用いることとした。マウスの性周期はラットに比べて安定しないため、十分な馴致の上で実験を行った。

実験 : 本成果をもとにした卵巣周期障害ラットの作出とレスキュー :

成熟雌ラットを用いる。実験 ~ で明らかになった選択的スプライシング関連蛋白質である GnRH の作動薬を、ポリエチレンのカニューレを装着したオスモティックミニポンプを用いて、卵巣に局所的かつ持続的に投与した。これにより、PRL 受容体の選択的スプライシングを人為的に操作し、黄体期の延長・短縮に挑戦した。

4. 研究成果

黄体はその機能維持に cell-cell interaction が重要な役割を持つことが知られており、株化細胞や初代培養系を用いた黄体の研究には限界があった。実験 1、2 では、応募者が確立したラット黄体の器官培養を用いることで、cell-cell interaction を保持したままの黄体の分子生物学的研究が遂行できた。

さらに、Wistar-Imamichi系成熟雌ラットを実験に供し、性周期各時期（発情休止期 1 日目、2 日目、発情前期、発情期）の午前と午後に卵巣を摘出して、PRL 受容体ロングフォーム、ショートフォーム、およびそのシグナル伝達因子について Real-time RT-PCR およびウェスタンブロットを行った。その結果、黄体退行の始まる時期と考えられる発情休止期の午後に、ロングフォームとショートフォームの発現比率が RNA レベル、タンパクレベルともに入れ替わり、ロングフォーム主体の発現がみられるようになった。

スプライシング・バリエーションは同じゲノムを一部共有するため、バリエーションに特異的なノックアウトマウスを作成することは容易ではない。他の方法としてノックダウン法が考えられるが、ノックダウンにもちいる siRNA は安定性が低く、*in vitro* では十分な効力を発揮するが、*in vivo* の実験系ではいまだ安定性、毒性に問題があるのが実状である。そこで実験 3 では、エクソン・イントロンの切り替わり領域に相補的に結合する、スプライシング切替オリゴマーを導入した。このオリゴヌクレオチドは、オクタグアニジンデンドリマーと結合しており、血清存在下でも非常に効率よく細胞内へ導入されることが報告されている。これまで *in vivo* での導入は主に線虫で用いられていたが、近年哺乳類へも応用され、個体レベルでも効率よく特定の mRNA の転写を効率よく抑制することができる。

本研究の実験 3 では、連携研究者である University of California Riverside の Ameae Walker のもとでこの技術を習得し、行った。オスモティックミニポンプを用いてこの薬剤を持続的に投与し、性周期の観察と投与後 5 日目の血中性ステロイド濃度の測定を行った。対照投与群では正常な性周期が観察されたのに対し、スプライシング切替オリゴマー投与群では、薬剤用量依存的に発情休止期の延長がみられた。もっとも高濃度のときには 5 日間の発情休止期の延長がみられた。投与後 5 日目の各マウスの血漿中プロジェステロンの濃度はロングフォームの発現量と正比例していた。

以上より、ロングフォームが黄体の機能、および寿命の決定に中心的な関わりをもつことが示唆された。

さらに、プロラクチン受容体のアイソフォーム別に阻害を行って同様の変化がみられるか検討した。プロラクチン受容体には選択的スプライシングにより合成されるロングフォーム (PRLR-LF) とショートフォーム群が存在するが、細胞の増殖や分化を促進する作用は主に PRLR-LF を介したシグナル伝達経路であると考えられている。そこで、PRLR-LF の選択的スプライシングを特異的に阻害する薬剤である Antimaia (研究者ら特許申請中) を用い、PRLR-LF の発現抑制が性周期に及ぼす影響について検討した。正常な性周期をもつ成熟メス C57BL/6 マウスを実験動物として用いた。

ALZET ミニポンプにて Antimaia を 1, 10, or 100 pmoles/h/head になるように皮下に留置し、その後の性周期の変化について膣スミア法を用いて確認した。また、卵巣における PRLR-LF の発現量についてリアルタイム RT-PCR 法にて測定した。その結果、投与 2 日目の PRLR-LF mRNA 発現は用量依存的に抑制された。とくに最も高い投与量のマウスでは PRLR-LF mRNA の発現は限界以下で認められなかった。これらのマウスの性周期は、用量依存的に発情休止期の延長がみられた。投薬後 1 週間の卵巣をヘマトキシリン・エオジンで観察したところ、閉鎖卵胞が多く見られ、卵胞の発育までは正常に行われたことが示唆された。

以上より、PRLR-LF は卵胞発育後、エストロジェンの産生の増加から黄体形成にかけて以降において必須のシグナル伝達経路であることが示された。

本研究は研究分担者として、応募者と同じ研究機関だった汾陽光盛、久留主志朗、研究協力者として、応募者の研究室を専攻した学部学生 8 名 (獣医学科のため修士課程に相当)、博士課程大学院生 2 名が参画した。汾陽光盛は蛋白質抽出および質量分析の技術を、久留主志朗は細胞培養技術を主に支援した。その他にもそれぞれの実験には高度な専門技術を要するが、上記のメンバーが技術支援することで、無理なく実験を遂行できた。また、本応募の海外共同研究者である University of California Riverside の Ameae Walker は、PRL 受容体 Short form に独自の機能があることを提唱している研究者である。PRL 受容体アイソフォーム特異的な抗体、スプライシング切替オリゴマーを応募者に提供するとともに、これらの使用技術について支援を行っていただいた。

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)

Orime A, Yonezawa T, Ogasawara H, Kuroyanagi T, Manda T. Analysis of preference for domestic grass-fed beef in Japanese youths. *Anim Sci J*. 2012 83(3):268-271. doi: 10.1111/j.1740-0929.2011.01006.x. 査読有

Fujiwara M, Yonezawa T, Arai T, Yamamoto T, Ohtsuka H. Alterations with age in peripheral blood lymphocyte subpopulations and cytokine synthesis in beagles. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 2012 3:79-84. DOI <http://dx.doi.org/10.2147/VMRR.S32590> 査読有

Ishida S, Yonezawa T, Eirai S, Kizaki K, Hashizume K, Tomioka M, Kurose Y, Hirano T, Watanabe D. Hormonal differences in peripheral blood and gene profiling in the liver and lymphocytes in Japanese Black Cattle with growth retardation. *J Vet Med Sci*. 2012 75(1):17-25. doi: <http://doi.org/10.1292/jvms.12-0141> 査読有

Hori Y, Kashimoto T, Yonezawa T, Sano N, Saitoh R, Igarashi S, Chikazawa S, Kanai K, Hoshi F, Itoh N, Higuchi SI. Matrix metalloproteinase-2 stimulates collagen-I expression through phosphorylation of focal adhesion kinase in rat cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012 303(9):C947-53. doi: 10.1152/ajpcell.00401.2011. 査読有

Ueki H, Mizushima T, Laoharatchathanin T, Terashima R, Nishimura Y, Rieanrakwong D, Yonezawa T, Kurusu S, Hasegawa Y, Brachvogel B, Poschl E, Kawaminami M. Loss of maternal annexin A5 increases the likelihood of placental platelet thrombosis and foetal loss. *Sci Rep*. 2012 2:827. doi: 10.1038/srep00827 査読有

Tomura S, Uchida M, Yonezawa T, Kobayashi M, Bonkobara M, Arai S, Miyazaki T, Tamahara S, Matsuki N. Molecular Cloning and Gene Expression of Canine Apoptosis Inhibitor of Macrophage. *J Vet Med Sci*. 2014 Dec;76(12):1641-5 doi:

10.1292/jvms.14-0166. 査読有

Sakai K, Yonezawa T, Yamawaki H, Oyamada T. Alteration of somatostatin receptor 2 expression in canine mammary gland tumor. *J Vet Med Sci*. 2015 May 18. [Epub ahead of print] 査読有

Laoharatchathanin T, Terashima R, Yonezawa T, Kurusu S, Kawaminami M. Augmentation of Metastin/Kisspeptin mRNA Expression by the Proestrous Luteinizing Hormone Surge in Granulosa Cells of Rats: Implications for Luteinization. *Biol Reprod*. 2015 May 20. pii: biolreprod.115.127902. [Epub s ahead of print] 査読有

[学会発表](計30件)

村上康平、前田真吾、米澤智洋、松木直章 犬の特発性多発性関節炎における新規バイオマーカー: Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 の発見 獣医臨床病理学会 2014 年大会 日本獣医生命科学大学 武蔵野市 東京都 2014.05.30

前田真吾、米澤智洋、松木直章、大野耕一、内田和幸、辻本元 イヌの炎症性腸疾患および消化管リンパ腫における Foxp3 陽性 regulatory T cell の免疫組織化学的検討 獣医臨床病理学会 2015 年大会 日本獣医生命科学大学 武蔵野市 東京都 2014.05.30

内田萌菜、米澤智洋、佐伯巨平、盆子原誠、前田真吾、松木直章 Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) がイヌ組織球性肉腫株化細胞にもたらす影響 獣医臨床病理学会 2015 年大会 日本獣医生命科学大学 武蔵野市 東京都 2014.05.30

酒居幸生、米澤智洋、松木直章、山脇英之、小山田敏文 イヌの乳腺腫瘍におけるソマトスタチン受容体発現の変化 獣医臨床病理学会 2016 年大会 日本獣医生命科学大学 武蔵野市 東京都 2014.05.30

村上康平、米澤智洋、松木直章 特発性多発性関節炎の犬のプレドニゾロン治療に伴う滑液蛋白濃度の変化 第11回日本獣医内科学アカデミー学術大会 パシフィコ横浜 横浜市 神奈川県 2015.02.20

加藤大貴、高橋雅、米澤智洋、金本英之、福島建次郎、藤野泰人、大野耕一、松木直章、辻本元 犬におけるベッドサイド測定機器による TAT 測定の有用性の基礎検討 第11回日本獣医内科学アカデミー学術大会 パシフィコ横浜 横浜市 神奈川県 2015.02.20

村上康平、米澤智洋、松木直章 犬の特発性多発性関節炎における血漿中 C3-IgG 複合体の検出 第 157 回日本獣医学会学術集会 北海道大学 札幌市 北海道
2014.09.09

米澤智洋、一瀬龍太郎、大畑素子、小玉大空、久留主志朗、汾陽光盛 GnRH 刺激された雌マウスは鋤鼻器を介した雄の繁殖行動を誘発する 第 107 回日本繁殖生物学会大会 帯広大学 帯広市 北海道
2014.08.21

米澤智洋、武藤顕一郎、進藤順治、久留主志朗、汾陽光盛 マウス間脳視床下部におけるアネキシン A5 の発現分布とうつ・不安行動への関与 第 29 回日本下垂体研究会 八王子セミナーハウス 八王子市 東京都
2014.08.08

Yuka Otaki, Tomohiro Yonezawa, Mona Uchida, Kohei Sato, Atusi Yamazaki Presence of contagious yawning in sheep 第 74 回日本動物心理学会大会 犬山国際観光センター フロイデ 犬山市 愛知県
2014.07.19

Tomohiro Yonezawa, Sora Kodama, Ryutarō Ichinose, Motoko Ohata, Shiro Kurusu and Mitsumori Kawaminami Effects of gonadotropin releasing hormone on courtship behavior and chemoattractants release into the urine of female mice The Endocrine Society's 96th Annual Meeting McCormick Place West Chicago IL, USA 2014.06.21

戸村慎太郎、内田萌菜、米澤智洋、盆子原誠、新井郷子、宮崎徹、玉原智史、松木直章 イヌ Apoptosis inhibitor of macrophage の配列決定と各組織における遺伝子発現 獣医臨床病理学会 2014 年大会 日本獣医生命科学大学 武蔵野市 東京都
2014.05.31

佐藤康平、内田萌菜、山崎 淳、米澤智洋 ヒツジにおけるあくびと反芻の伝染 日本家畜管理学会・応用動物行動学会 2014 年度春季合同研究発表会 文部科学省研究交流センター つくば市 茨城県
2014.03.25

白坂美貴、戸田素弘、増田加奈子、治田悟、寺島涼太、米澤智洋、久留主志朗、汾陽光盛 妊娠ラットの生殖組織における Autotaxin の発現と活性 第 156 回日本獣医学会学術集会 岐阜大学 岐阜市 岐阜県
2013.09.20

空 純子、米澤智洋、久留主志朗、汾陽光盛 去勢後のラット前立腺退縮に伴うマスト細胞の浸潤と GnRH-アネキシン A5 系の変化 第 156 回日本獣医学会学術集会 岐阜大学 岐阜市 岐阜県 2013.09.20

米澤智洋, Kuan-Hui Chen, Mrinal Ghosh, Lorena Rivera, David Duong, 汾陽光盛, Ameae M Walker プロラクチン受容体ロングフォームの発現抑制による乳腺腫瘍の治療 第 156 回日本獣医学会学術集会 岐阜大学 岐阜市 岐阜県 2013.09.20

小野寺桃子、水品智菜、尾崎 優、武藤顕一郎、米澤智洋、久留主志朗、汾陽光盛 アネキシン A5 ノックアウトマウスの黄体形成ホルモン(LH)分泌 第 156 回日本獣医学会学術集会 岐阜大学 岐阜市 岐阜県 2013.09.20

汾陽光盛、中村祐希、米澤智洋、久留主志朗 ラット発情前期の黄体形成ホルモン(LH)サージに伴う下垂体前葉でのアネキシン A5 の変化 第 156 回日本獣医学会学術集会 岐阜大学 岐阜市 岐阜県 2013.09.20

Titaree Laoharatchathanin, Ryota Terashima, Tomohiro Yonezawa, Shiro Kurusu, Mitsumori Kawaminami Mast cells production of gonadotrophin releasing hormone (GNRH) and its possible relation to Annexin A5 (ANXA5) expression in the ovary of rats 7th International Conference on Annexins London University London UK 2013.09.09

Ryota Terashima, Titaree Laoharatchathanin, Tomohiro Yonezawa, Shiro Kurusu, Bent Brachvogel, Ernst Pöschl, Mitsumori Kawaminami Differential expression of gonadotrophin releasing hormone (GNRH)-related genes in the anterior pituitary gland of Annexin A5 (ANXA5) null mouse 7th International Conference on Annexins London University London UK 2013.09.09

21 Yonezawa T, Motoh K-I, Shindo J, Kurusu S, Brachvogel B, Pöschl E, Kawaminami M Specific distribution of Annexin A5 in the hypothalamus and possible relationship to altered behavior of Annexin A5 null mouse 7th International Conference on Annexins London University London UK 2013.09.09

22 Momoko Onodera, Tomona Mizushina, Yu Ozaki, Tomohiro Yonezawa, Shiro Kurusu,

- Bent Brachvogel, Ernst Poschl, Mitsumori Kawaminami Gonadotrophin secretion of Annexin A5 null mouse 7th International Conference on Annexins London University London UK 2013.09.09
- 23 長嶋 慧, 治田 悟, 米澤智洋, 久留主志朗, 汾陽光盛 ラット子宮角におけるリゾホスファチジン酸産生・受容システムと平滑筋収縮への影響 第26回バイオサイエンスフォーラム 北里大学 相模原市 神奈川県 2013.08.09
- 24 久留主志朗, 治田 悟, 長嶋 慧, 米澤智洋, 汾陽光盛 性周期回帰ラット黄体の形態的退行時における autotaxin の組織リモデリング調節作用 第26回バイオサイエンスフォーラム 北里大学 相模原市 神奈川県 2013.08.09
- 25 汾陽光盛, 中村祐希, 米澤智洋, 久留主志朗 黄体形成ホルモン(LH)分泌に伴うゴナドトロフ内アネキシン A5 の局在 第28回日本下垂体研究会 ホテル千秋閣 花巻市 岩手県 2013.08.08
- 26 寺島涼太, 米澤智洋, 久留主志朗, 汾陽光盛 ゴナドトロフにおける Myxovirus resistance 1 (Mx1) のイントロン複合型 mRNA の発現 第28回日本下垂体研究会 ホテル千秋閣 花巻市 岩手県 2013.08.08
- 27 Titaree Laoharatchathanin, Ryota Terashima, Tomohiro Yonezawa, Shiro Kurusu, Mitsumori Kawaminami Pre-ovulatory augmentation of metastin mRNA expression in follicles of rats The Endocrine Society's 95th Annual Meeting Moscome Center San Francisco CA, USA 2013.06.15
- 28 Ryota Terashima, Titalee Laoharatchathanin, Tomohiro Yonezawa, Shiro Kurusu, Takako Kato, Yukio Kato, Kawaminami M Interferon (IFN) -alpha stimulates the accumulation of Myxovirus (influenza virus) resistance 1 (Mx1) pseudo-gene transcripts including an intron-containing transcript in mouse pituitary gonadotropes: possible relation to intra-pituitary action of IFN- α The Endocrine Society's 95th Annual Meeting Moscome Center San Francisco CA, USA 2013.06.15
- 29 Tomohiro Yonezawa, Ethan Chen, Mrinal Ghosh, Lorena Rivera, Riva Dill, David Duang, Ameae M Walker Antimaia: First in a New Class of Breast Cancer Therapeutics the California Breast Cancer Research Program 2014 Hilton Orange County Costa Mesa CA, USA 2013.05.17
- 30 Tomohiro Yonezawa, KuanHui E. Chen, David Duong, Lisa Ma, Mrinal Ghosh, Ameae M Walker Anti-cancer effects of Antimaia in a highly metastatic, orthotopic, immunologically-competent model of breast cancer The 105th American Association for Cancer Research Meeting San Diego Convention Center Washington DC USA 2013.04.05
- 〔図書〕(計2件)
米澤智洋, 松木直章 症例から学ぶ鑑別診断「嘔吐を呈した症例」SA Medicine 2014 9 4-10 Inter Zoo
- 米澤智洋 陰茎と Os Penis の関係 日本医事新法 2014 4729 57-58 日本医事新報社
- 〔産業財産権〕
 出願状況(計2件)
Ameae Walker, Mrinal Ghosh, Kuan-Hui Chen, Tomohiro Yonezawa. Splice odulating oligonucleoties that inhibit cancer PCT/US2013/070445 2012年11月16日 WO/2014/078749 2014年5月22日
- Tomohiro Yonezawa, Mona Uchida, Naoaki Matsuki Therapeutic agent for tumor derived from immune cells and use thereof US Prov Appl 62/167,274 2015年5月28日
- 〔その他〕
 ホームページ
<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/vcpb/yonezawa.html>
6. 研究組織
 (1)研究代表者
米澤智洋 (YONEZAWA, Tomohiro)
 東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授
 研究者番号: 10433715
- (2)研究分担者
汾陽光盛 (KAWAMINAMI, Mitsumori)
 北里大学獣医学部獣医学科・教授
 研究者番号: 00153007
- 久留主志朗 (KURUSU, Shiro)
 北里大学獣医学部獣医学科・准教授
 研究者番号: 00153007
- (3)連携研究者なし