

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25290036

研究課題名(和文) 自己炎症性症候群モデルマウスにおけるマスト細胞活性化機構の解明と分子標的薬開発

研究課題名(英文) Molecular analysis of mast cell activation in mouse models for autoinflammatory syndromes and its use for anti-inflammatory drug development

研究代表者

阿部 幸一郎 (ABE, Koichiro)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：90294123

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：自己炎症性症候群は、自己反応性の抗体や細胞などによらず、内的要因によって発症する炎症疾患である。Ali18およびAli14マウスは、ENUミュータジェネシスクリーンにおいて、四肢末端部に炎症を起こす変異系統として単離された。本研究では、交配実験によりこの炎症におけるマスト細胞の寄与を明らかとした。さらに変異マウス骨髄細胞よりマスト細胞を培養して解析したところ、刺激によるカルシウム濃度に異常が認められた。また、変異マウス由来のマスト細胞活性化経路における遺伝子発現をマイクロアレイにより比較解析した。これらにより自己炎症に関与する経路が明らかになり、炎症を抑制する候補遺伝子群が同定された。

研究成果の概要(英文)：Autoinflammation syndromes are caused by an exaggerated innate immune system response without autoantibodies and self-reactive T cells, and the patients show spontaneous inflammation affecting multiple organs. The Ali14 and Ali18 are gain-of-function mutations in cell signaling effector enzyme genes, and trigger inflammation through the innate immune cells by unknown mechanisms. Because the double mutant with Ali18 and W/W^v, which lacks mast cell population, did not show autoinflammation, we analyzed cultured mast cells from mutant bone marrow. Ali14 and Ali18 mast cells showed lower calcium concentration for antigen stimulation. Further, micro-array analysis identified 1124 and 750 up-regulated genes specifically in Ali18 and Ali14 mast cells, respectively. Further, 127 genes were up-regulated in both mutant mast cells. Cell signaling pathways involving these up-regulated genes might provide insight into extensive repression against autoinflammation.

研究分野：実験動物学

キーワード：病態モデル 関節炎 自然炎症 変異マウス

1. 研究開始当初の背景

Ali14 と *Ali18* (*Ali* for Abnormal limb) は、ドイツにおける大規模ミュータジェネシスプロジェクトにおいて、末梢四肢の紅斑や浮腫を指標に単離された半優性 (semidominant) 突然変異マウス系統である。現在までに、連鎖解析による遺伝的地図作製と positional candidate cloning による手法により、それら原因遺伝子が同定されている。

Ali14 はマウス第 8 番染色体に位置するホスホリパーゼ C 2 (*Plcg2*) でミスセンス変異が検出された。*Ali14* 変異は *Plcg2* のタンパク質結合に重要な spPH ドメイン内のアミノ酸置換を引き起こし、*in vitro* で *Plcg2* が関与するシグナル伝達経路を増強した。これらの結果より *Ali14* は、*Plcg2* の機能亢進型変異と考えられた。

Ali18 変異は、マウス第 4 番染色体にマップされた。クリティカル領域を candidate sequencing で解析した結果、*Ali18* 変異はチロシンキナーゼのミスセンス変異として検出された。*Ali18* 変異による置換アミノ酸は、不活性型形成に重要な C 末端チロシン残基のごく近傍に位置することから、不活性型をとれなくなり機能亢進型になることが予想された。また、*Ali14* と *Ali18* のダブルヘテロマウス (*Ali14/+; Ali18/+*) では、末梢四肢のみでなく全身の皮膚における重篤な炎症を呈する。皮膚全般における炎症はそれぞれの単一の変異マウスの表現型としては認められないことから、それぞれの原因遺伝子産物は同じシグナル伝達経路に位置して協調的に機能していることが明らかである。

自己炎症性症候群は、感染や化学物質などの環境要因により誘発されるものではなく、遺伝的要因などの内的要因によって周期性発熱や皮疹、紅斑、蕁麻疹、関節炎などの臨床症状が見られる。自己抗体価の上昇や特異的 T 細胞の存在なしでもおこる炎症が特徴である。最近、寒冷蕁麻疹の異なる 3 家系で、*PLCG2* 遺伝子の欠失が原因となる症例が報告された。これらの患者家系では、エクソン 19 から 22 に位置する autoinhibitory ドメインが欠損することによって *PLCG2* が恒常的に活性化されることが示された。寒冷蕁麻疹ではマスト細胞 (肥満細胞) が原因となることが知られていたが、これらの患者に由来するマスト細胞を低温処理すると脱顆粒が高率に起こることが示された。また、別の優性遺伝する自己免疫疾患の家系においても *PLCG2* の欠失変異が報告された。この患者家系では、皮膚病変、細気管炎、関節痛の症状が認められ、変異タンパクの解析より機能亢進型であることが示された。

以上のような自己炎症性症候群の解析より、*PLCG2* の機能亢進がマスト細胞を活性化することがトリガーとなっている可能性が考えられた。マスト細胞は骨髄に由来し、血流にのって全身を循環した後に粘膜や結合組織に定着することから、変異マウスの広

範囲の炎症症状をうまく説明できる。上記の *Ali14* と *Ali18* マウスでは、骨髄に由来する自然免疫系の細胞が原因であることは報告されたが、マスト細胞の炎症症状への関与は報告されていない。

2. 研究の目的

PLCG2 が関与するマスト細胞のシグナル伝達経路が一部の自己炎症性症候群に重要であることが明らかとなったが、その分子発症機構や効果的治療法については不明であった。本研究では自己炎症性疾患のモデルとして *Ali14* および *Ali18* 変異マウスを用いて、マスト細胞を中心とした分子病態メカニズムの解明とそれを新たな治療薬開発に応用することを目指し、1) 二重変異マウスの表現型解析、2) 変異マウス骨髄由来マスト細胞の解析、3) マイクロアレイによるマスト細胞におけるターゲット遺伝子の網羅的解析の三点に焦点を絞って研究を行った。

3. 研究の方法

1) 二重変異マウスの表現型解析

Ali14, *Ali18*, *W/W^v* マウスをそれぞれの組み合わせで交配させ、二重変異マウスを作成して表現型を解析した。主にクリニカルスコアにより炎症の強さを記録し、必要ならば炎症を起こした四肢の組織切片を作製して解析を行った。これらにより、原因遺伝子間の相互作用ならびにマスト細胞の炎症症状への関与を遺伝学的に検証した。

2) 変異マウス骨髄由来マスト細胞の解析

それぞれの変異マウスより長骨を採取し、IL-3 を含むマスト細胞の培養に適した培地に入れて研究分担者 (羅) の研究室へ送付した。そこでマスト細胞の培養を行い、抗原刺激による活性化 (脱顆粒や細胞内カルシウム濃度) を測定した。また、得られた細胞をコンジュニック化した *W/W^v* マウスの末梢四肢の結合組織への移植を行った。移植部位での炎症状態を経時的に観察してクリニカルスコアを記録した。また、培養マスト細胞へそれぞれの変異を導入した原因遺伝子をベクターに組み込み、レトロウイルスによる遺伝子導入を行った。発現細胞を薬剤耐性で選択した後、抗原刺激を加えたときのマスト細胞の活性化を測定するとともに、通常の *WBB6F1-W/W^v* マウスへ移植を行った。

3) マイクロアレイによるマスト細胞におけるターゲット遺伝子の網羅的解析

Ali14 と *Ali18* の原因遺伝子のシグナル伝達経路の活性化によって発現上昇あるいは抑制される下流の遺伝子群に関する情報は不明であり、共通の標的分子が同定されれば、その経路をターゲットとした分子標的薬開発が可能となる。そこで機能的かつ均一な材料である培養マスト細胞由来の mRNA をプローブとして、マイクロアレイ解析を行った。

*Ali14/+*と *Ali18/+*のヘテロマウス及びそれらの変異マウスの遺伝的背景である C3HeB/FeJ 系統の野生型マウス、および関節炎の症状を抑制する効果のある遺伝的背景である C57BL/6J マウスよりマスト細胞を培養した。それらの培養マスト細胞の RNA サンプルを、研究分担者(田嶋)の研究室へ送付してマイクロアレイ実験及びデータ解析を行った。

4. 研究成果

1) 二重変異マウスの表現型解析

本研究では、*Ali14* および *Ali18* 変異マウスにおける関節炎の発症に関わるイニシエーターとしてマスト細胞を焦点として研究を行った。これは、予備的な実験よりマスト細胞を欠損する *Kit* 変異マウス (*W/W^v*) と *Ali18* 変異マウスとの二重変異マウスでは関節炎の発症が抑制されるという結果を基にしている。*W/W^v;Ali18/Ali18* 変異マウスを得るために、*W*あるいは *W^v*と *Ali18* の二重ヘテロ変異マウス (*W/+;Ali18/+*, *W^v/+;Ali18/+*) を作製して、それらの交雑を行った。それら F2 の遺伝子型を PCR と制限酵素切断により決定し、関節炎の表現型を clinical score により解析した。その結果、*Kit* が野生型で *Ali18* がホモの *+/+;Ali18/Ali18* では、6 個体中 5 個体 (83.3%) で関節炎の発症が認められた。しかし、マスト細胞を欠損する *W/W^v;Ali18/Ali18* マウスでは、13 個体中関節炎を発症する個体は認められなかった。また、マスト細胞の存在する粘膜や皮下組織の組織切片を作製し、トルイジンブルーにより染色を行ったところ、予想通り *W/W^v* マウスでは陽性細胞は認められなかった。このことより、*Ali18* ではマスト細胞が非存在下では自己炎症が発生しないことが明らかとなった。また、同様に、*Ali14* マウスに対しても二重ヘテロマウスを作製し、交配により *W/W^v;Ali14/+* を得た。興味深いことに、この遺伝子型のマウスは関節炎を発症した。このことにより、*Ali14* マウスではマスト細胞非存在下においても、他の骨髓由来血液細胞によって補償されて自己炎症が発症することが予想された。また、*Ali18* と *Ali14* の二重変異マウスは、*Ali18/+* と *Ali14/+* の交配により得られた。しかし、*Ali14* マウスは生殖能力が低いために、多くの産仔を得ることが困難であった。十分な数の目的の遺伝子型のマウスを得ることはできなかったが、得られた二重変異マウスは特に重篤な自己炎症は認められなかった。二重変異マウスは個体によっては成長期以前に致死となることも考えられ、このことは飼育環境により *Ali14/+;Ali18/+* マウスの自己炎症の強さが異なることを示している。

2) 変異マウス骨髓由来マスト細胞の解析

Ali14 および *Ali18* 変異マウスの骨髓細胞を培養してマスト細胞へと分化させ、抗原刺激

を行って脱顆粒などのマスト細胞の活性化能を計測した。さらに、それらの細胞を *W/W^v* マウスの末端四肢に直接注射または静脈内注射により移植を行った。変異マウス骨髓より培養したマスト細胞の活性化能を測定した結果、野生型のマスト細胞に対して有意な変化は認められなかった。また、マスト細胞では抗原刺激によりカルシウム濃度が上昇することが知られている。変異マウス由来の培養マスト細胞でカルシウム濃度を測定したところ、野生型では比較して抗原刺激後の上昇が抑えられていることが明らかとなった。このようなカルシウム濃度上昇の抑制は、サイトカイン等の異常によって認められるパターンであり、マスト細胞から分泌されるケモカイン濃度が異常となり炎症細胞を呼び寄せる可能性が考えられた。また、このマスト細胞を *W/W^v* マウスに移植したところ、四肢末端部への注射では炎症は認められなかった。一方、静脈注射による移植を行ったマウスでは耳介の血管周辺に炎症が認められたものの、四肢での炎症は認められていない。これらより、*Ali18* と *Ali14* 変異マウスの末梢四肢の自己炎症症状において、マスト細胞の貢献は限定的で顆粒球やマクロファージとの相互作用が重要であることが示唆された。

3) マイクロアレイによるマスト細胞におけるターゲット遺伝子の網羅的解析

培養マスト細胞より抽出した RNA を用いてマイクロアレイ解析を行った。*Ali18* および *Ali14* 変異は優性かつ機能亢進型であることがわかっているため、刺激によって発現が変動する遺伝子群のうち、発現が上昇する遺伝子群に焦点を絞って解析した。その結果、抗原刺激によって発現量が 2 倍以上増加する遺伝子が合計 7876 個検出された。そのうち、*Ali18/+* で特異的に上昇する遺伝子群は 1124 個で、*Ali14/+* では 750 個であった。また、興味深いことに、これらの変異マウスの自己炎症を抑制する遺伝的背景である BL6 のマスト細胞では 2923 個の特異的に発現が上昇する遺伝子群が検出された。現在、変異マウスの特異的なシグナル経路において、抑制的に働くような遺伝子群が BL6 に存在しないか探索している。また、*Ali18/+* と *Ali14/+* で共通して発現が上昇する遺伝子群が 127 個検出された。これらの遺伝子群が関与するシグナル経路を阻害することが可能であれば、より広い範囲で炎症を抑制するような薬剤の開発に応用できることが考えられた。現在、標的となるシグナル経路の同定と評価を行っている。

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 18 件) 査読有

Motojima M, Ogiwara S, Matsusaka T, Kim SY, Sagawa N, Abe K, Ohtsuka M. Conditional knockout of Foxc2 gene in kidney; efficient generation of conditional alleles of single-exon gene by double-selection system. *Mammalian genome* 27, 62-69, 2016.

Shinmyo Y, Tanaka S, Tsunoda S, Hosomichi K, Tajima A, Kawasaki H. CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in the mouse brain using in utero electroporation. *Sci Rep* 6:20611, 2016.

Tada H, Hosomichi K, Okada H, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Tomizawa S, Tajima A, Mabuchi H, Hayashi K. A de novo mutation of the LDL receptor gene as the cause of familial hypercholesterolemia identified using whole exome sequencing. *Clin Chim Acta* 453:194-196, 2016.

Abe K, Takamatsu N, Ishikawa K, Tsurumi T, Tanimoto S, Sakurai Y, Lisse T, Serikawa T, Mashimo T. Novel ENU-induced mutation in Tbx6 causes dominant spondylocostal dysostosis-like vertebral malformations in the rat. *PLoS ONE* 10(6), e0130231, 2015.

Nakano Y, Negishi N, Gocho S, Mine T, Sakurai Y, Yazawa M, Abe K, Yagita H, Habu S, Kageyama R, Kawaguchi Y, Hozumi K. Disappearance of centroacinar cells in the Notch ligand-deficient pancreas. *Genes to Cells*, 20, 500-511, 2015.

Rieger S, Hengguang Zhao, Paige Martin, Abe K, Lisse TS. The role of nuclear hormone receptors in cutaneous wound repair. *Cell Biochem. Funct.* 33, 1-13, 2015

Nunomura S, Ohtsubo-Yoshioka M, Okayama Y, Terui T, Ra C.: FcR promotes contact hypersensitivity to oxazolone without affecting the contact sensitisation process in B6 mice. : *Experimental Dermatology* 24(3):204-208, 2015.

Nunomura S, Okayama Y, Terui T, Ra C.: Treatment of murine mast cells with IgE and Protein L enhances apoptotic cell death induced by IL-3 withdrawal. *Biochemical Biophysical Research Communications* 456(2):700-705, 2015.

Lee H, Kashiwakura J, Matsuda A, Watanabe Y, Sakamoto-Sasaki T, Matsumoto K, Hashimoto N, Saito S, Ohmori K, Nagaoka M, Tokuhashi Y, Ra C, Okayama Y. Activation of human synovial mast cells from rheumatoid arthritis or osteoarthritis patients in response to aggregated IgG through Fcg receptor I and

Fcg receptor II. *Arthritis and Rheumatism* 65: 109-19, 2013.

Ito R, Takahashi T, Katano I, Kawai K, Kamisako T, Ogura T, Ida-Tanaka M, Suemizu H, Nunomura S, Ra C, Mori A, Aiso S, Ito M. 2013. Establishment of a Human Allergy Model Using Human IL-3/GM-CSF-Transgenic NOG Mice. *Journal of Immunology* 191: 2890-9

Ohtsubo-Yoshioka M, Nunomura S, Kataoka TR, Okayama Y, Ra CS. Fc receptor beta chain deficiency exacerbates murine arthritis in the anti-type II collagen antibody-induced experimental model. *Modern Rheumatology* 23: 804-10, 2013.

Taketomi Y, Ueno N, Kojima T, Sato H, Murase R, Yamamoto K, Tanaka S, Sakanaka M, Nakamura M, Nishito Y, Kawana M, Kambe N, Ikeda K, Taguchi R, Nakamizo S, Kabashima K, Gelb MH, Arita M, Yokomizo T, Watanabe K, Hirai H, Okayama Y, Ra C, Aritake K, Urade Y, Morimoto K, Sugimoto Y, Shimizu T, Narumiya S, Hara S, Murakami M. Mast cell maturation is driven via a group III phospholipase A(2)-prostaglandin D-2-DP1 receptor paracrine axis. *Nature Immunology* 14: 554-, 2013.

Takahashi M, Izawa K, Kashiwakura J, Yamanishi Y, Enomoto Y, Kaitani A, Maehara A, Isobe M, Ito S, Matsukawa T, Nakahara F, Oki T, Kajikawa M, Ra C, Okayama Y, Kitamura T, Kitaura J. Human CD300C Delivers an Fc Receptor-gamma-dependent Activating Signal in Mast Cells and Monocytes and Differs from CD300A in Ligand Recognition. *Journal of Biological Chemistry* 288: 7662-75, 2013.

Okayama Y, Matsuda A, Kashiwakura JI, Sasaki-Sakamoto T, Nunomura S, Shimokawa T, Yamaguchi K, Takahashi S, Ra C.: Highly expressed cytoplasmic Fc RI in human mast cells functions as a negative regulator of the FcR -mediated cell activation signal.: *Clin Exp Allergy* 44(2):238-249, 2014.

Fujisawa D, Kashiwakura J, Kita H, Kikukawa Y, Fujitani Y, Sasaki-Sakamoto T, Kuroda K, Nunomura S, Hayama K, Terui, T, Ra C, Okayama Y.: MrgX2 is a receptor for basic eosinophil granule proteins, and its expression is significantly upregulated on skin mast cells of severe chronic urticaria patients.: *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134(3):622-633, 2014.

Kurata R, Tajima A, Yonezawa T and Inoko H. TRIM39R, but not TRIM39B, regulates type I interferon response. Biochemical and biophysical research communications 436, 90-95, 2013.

Nakaoka H, Tajima A, Yoneyama T, Hosomichi K, Kasuya H, Mizutani T, Inoue I. Gene expression profiling reveals distinct molecular signatures associated with the rupture of intracranial aneurysm. Stroke, 45(8):2239-2245, 2014.

Yu W, Zheng H, Lin W, Tajima A, Zhang Y, Zhang X, Zhang H, Wu J, Han D, Rahman NA, Korach KS, Gao GF, Inoue I, Li X. Estrogen promotes Leydig cell engulfment by macrophages in male infertility. J Clin Invest, 124(6):2709-2721, 2014.

[学会発表](計 16 件)

Izaki S, Nunomura S, Hayama K, Fujisawa D, Hatada Y, Ra C, Okayama Y, Terui T: Usefulness of flow cytometric analysis for detection of anti-Fc RI autoantibody in chronic spontaneous urticaria: 第 40 回日本研究皮膚科学会年次学術大会, 岡山コンベンションセンター (岡山県岡山市), 2015.12.12.

Abe K, Nunomura S, Ra C, Tajima A, Fuchs H, Hrabe de Angelis. Abnormal innate immune responses of ENU-induced Ali18 and Ali14 mutant mice lead to autoinflammatory syndrome like phenotypes. 29th International Mammalian Genome Conference. Yokohama Port Opening Memorial Hall (Yokohama, Kanagawa). 2015.11.8-11.

阿部幸一郎. ENU ミュータジェネシスにおいて単離されたマウスモデルによる自己炎症性疾患発症機構の解析. 日本遺伝学会第 87 回大会. 東北大学 (宮城県仙台市). 2015.9.24-26.

阿部幸一郎, 布村聡, 羅智靖, 田嶋敦. 自己炎症性症候群モデルマウスにおける自然免疫系のシグナル伝達異常による炎症発生機構の解析. 第 62 回日本実験動物学会総会. 京都テルサ (京都府京都市). 2015.5.28-30.

三嶋 信太郎, 岡村 祐己, 坂本 朋美, 柏倉 淳一, 布村聡, 徳橋 泰明, 羅智靖, 岡山 吉道: 関節リウマチ (RA) におけるサブスタンス P (SP) /Mas-related gene X2 を介した滑膜マスト細胞による炎症の増悪: 第 64 回日本アレルギー学会秋季学術大会, グランドプリンスホテル新高輪 (東京都港区), 2015.5.28.

阿部幸一郎, 布村聡, 羅智靖, 田嶋敦. 自己炎症性症候群モデルマウスにおける自然免疫系異常による炎症発生機構の解析. 日本実験動物科学技術 2014. 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市). 2014.5.15-17.

羅智靖: マスト細胞の基礎と臨床 Update マスト細胞生物学の新たな展開: 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会, ホテルニューオータニ (東京都千代田区), 2013.11.28.

布村聡, 照井正, 岡山吉道, 羅智靖: Protein L によるマスト細胞死の促進作用の解析: 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会, ホテルニューオータニ (東京都千代田区), 2013.11.28.

瓦井俊孝, 田嶋敦, 黒田由紀子, 佐治直樹, 寺澤英夫, 清水洋孝, 喜多也寸志, アントニオオラッキオ, 宮本亮介, 和泉唯信, 三ツ井貴夫, 井本逸勢, 梶龍兒: 精神運動発育遅滞を伴う家族性小脳失調症で見つかった VWA3B 遺伝子変異. 日本人類遺伝学会第 59 回大会・日本遺伝子診療学会第 21 回大会 合同大会. タワーホール船堀 (東京都江戸川区). 2014.11.19-22.

下川敏文, 布村聡, 藤澤大輔, 羅智靖: 好中球分化における C/EBP の C 末端 GABP 相互作用領域の解析: 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市), 2013.12.3

Nunomura S, Okayama Y, Terui T, Ra C: FcR promotes contact hypersensitivity to oxazolone without affecting the contact sensitization process: 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会, 国立京都国際会館 (京都府京都市), 2014.12.10

谷口真沙美, 阿部幸一郎, 檜山明彦, 酒井大輔, 持田譲治. パルプロ酸投与をモデルとしたエピジェネティックな遺伝子発現制御による脊椎形成異常の解析. 第 60 回日本実験動物学会総会. つくば国際会議場 (茨城県つくば市). 2013.5.15-17.

阿部幸一郎, 鶴見東志子, 高松信彦, 石川久美子, 今井賢治, 芹川忠夫, 真下知士. ラットにおいて優性遺伝する脊椎形成異常を引き起こす Oune の原因遺伝子の同定とその機能解析. 第 60 回日本実験動物学会総会. つくば国際会議場 (茨城県つくば市). 2013.5.15-17.

Koichiro Abe. Oune, a missense mutation in Tbx6, causes congenital vertebral malformations in the rat. 27th International Mammalian Genome

Conference, Colegio Fonseca,
(Salamanca, Spain). 2013. 9.15-18.

倉田里穂、田嶋敦、米沢朋、猪子英俊：
TRIM39R, but not TRIM39B regulates
type I interferon. 第 36 回日本分子生物
学会年会 . 神戸ポートアイランド (兵庫
県神戸市). 2013.12.3-6.

谷口真沙美、佐川暢保、川上祥一、酒井
大輔、持田譲治、阿部幸一郎. パルプロ酸
投与をモデルとした脊柱形態異常をもた
らす環境要因と遺伝子発現制御相互作用
の解析. 第 36 回日本分子生物学会年会.
神戸ポートアイランド (兵庫県神戸
市). 2013.12.3-5.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://abe.med.u-tokai.ac.jp/index.html>

[http://www.u-tokai.ac.jp/effort/activit
y/twave/volume02_2/](http://www.u-tokai.ac.jp/effort/activity/twave/volume02_2/)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

阿部 幸一郎 (ABE, Koichiro)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：90294123

(2)研究分担者

羅 智靖 (RA, Chisei)

日本大学・医学部・客員教授

研究者番号：60230851

田嶋 敦 (TAJIMA, Atsushi)

金沢大学・医薬保健研究域・教授

研究者番号：10396864

(3)連携研究者

布村 聡 (NUNOMURA, Satoshi)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：7042728

木村 穰 (KIMURA, Minoru)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：10146706