

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月18日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2014～2018

課題番号：26114009

研究課題名(和文)細胞競合に關与するストレス応答分子の探索

研究課題名(英文) Exploring stress-responsive molecules involved in cell competition

研究代表者

一條 秀憲 (Ichijo, Hidenori)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・教授

研究者番号：00242206

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 73,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では初期のがんの排除や、個体発生過程において重要と考えられる細胞競合現象について、Scribble欠損による細胞競合をモデルとして、分子メカニズムの解析を行った。まず、全自動ハイコンテントイメージアナライザーを利用して、細胞競合を定量的かつハイスループットに測定する検出系を構築した。それを活用しつつ、正常細胞とScribble欠損細胞の違いに着目した網羅的トランスクリプトーム解析、およびMAPキナーゼ経路に着目したcandidateアプローチにより、ASK1-p38経路に発現制御される液性因子がScribble欠損に誘導される細胞競合に必要なことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、全自動ハイコンテントイメージアナライザーを用いて、精密な細胞競合の測定系を構築した。またそれを利用してこれまで分子メカニズムが不明であった哺乳類細胞における細胞競合において、ASK1-p38経路というシグナル伝達経路が形質転換細胞であるScribble欠損細胞内で活性化し、特定の液性因子の発現を誘導すること、またその液性因子が正常細胞に感知されて細胞競合が引き起こされることを明らかにした。これらの知見は、細胞競合現象の理解を深めるとともに、細胞競合の関わる初期のがんの排除などを制御する薬剤の具体的なターゲットを提示した点で意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)： In this study, using Scribble knock down model, we scrutinized the molecular mechanism of cell competition, which is considered to be involved in early cancer elimination and ontogenesis. First, we established a high-throughput quantitation system of cell competition, using high content image analyzer. Then, we performed a transcriptome analysis focusing on the difference between normal and transformed cells and a candidate approach focusing on MAP kinase pathway. From these results, we found that a humoral factor that is expressed through ASK1-p38 pathway is required for cell competition induced by Scribble depletion.

研究分野：分子生物学

キーワード：細胞競合 Scribble トランスクリプトーム解析 液性因子 ASK1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体の内外表面を覆っている上皮組織は、常に外部環境に直接曝される組織であり、外部からの様々なストレスにより、形質転換が誘導された細胞がある一定頻度で出現することを免れない。したがって個々の上皮細胞は、これらの形質転換細胞を認識・排除し、組織としての秩序を保つためのストレス応答機構の存在が必須であると考えられる。近年、上皮組織における恒常性維持システムの1つとして「細胞競合」という機構が注目を集めている。細胞競合は組織中に形質転換細胞が出現すると、この細胞が周りの正常細胞の働きで組織から排除されるという現象であり、初期のがん細胞の排除や、個体発生過程において働いていると考えられている。

この細胞競合過程において、正常細胞および形質転換細胞の双方においてストレスシグナル伝達経路が機能すると考えられる。すなわち、正常細胞は「形質転換細胞の存在」というストレスを、形質転換細胞は「正常細胞から受けた攻撃」というストレスを認識し、それぞれの細胞で細胞内ストレス応答分子の働きにより細胞死や組織からの離脱といった競合現象が誘導される。したがって細胞競合は、上皮組織恒常性維持のためのストレス応答機構のひとつと捉えることもできる。実際近年の研究から、細胞競合現象を制御するストレスシグナル伝達経路のひとつとしてストレス応答性 MAP キナーゼ (MAPK) 経路が使われていることがわかってきた。このように細胞競合を制御する一部のストレス応答シグナル伝達経路の寄与が明らかにされつつあるものの、正常、および形質転換した上皮細胞が他者の存在というストレスをどのようなメカニズムで認識しているのか、そのストレスの感知機構をはじめとし、細胞競合を司る分子メカニズムの全貌は明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、細胞競合の過程において、正常細胞もしくは形質転換細胞において機能する分子を網羅的に探索・同定することを大きな目的とする。具体的な方法としては、我々が開発した哺乳類細胞株を対象としたゲノムワイド siRNA スクリーニングを細胞競合に適用する網羅的アプローチと、研究代表者が長年解析してきた ASK-MAPK 経路を中心に既知のストレス応答制御因子の細胞競合への関与を解析する Candidate アプローチを行う。これらの解析により、初期のがん細胞の排除や個体発生に関わると考えられる細胞競合現象の分子基盤を哺乳類細胞において解き明かす。将来的には、それらの分子やシステムをターゲットとした薬剤の開発により初期のがんの検出、競合を利用したがんの排除などにつなげることを目的とする。

3. 研究の方法

研究の目的で書いたとおり、本研究では(1)哺乳類細胞を対象としたゲノムワイド siRNA スクリーニングによる網羅的アプローチ、研究途中の知見から発想した網羅的アプローチの別の方法として(2)正常細胞と形質変異細胞の発現する遺伝子の違いに着目したトランスクリプトーム解析、さらに、(3)特定のストレス応答因子に着目した Candidate アプローチによる検討を行った。

(1) ゲノムワイド siRNA スクリーニング

我々が開発したゲノムワイド siRNA スクリーニングは、ヒトまたはマウスの全ゲノムスケール(18,000 遺伝子)について arrayed format の siRNA ライブラリーを用いてノックダウンを行い、各遺伝子ノックダウンの表現系の数値化は全自動ハイコンテンツイメージアナライザーを用いて細胞の画像データをハイスループットかつ客観的・定量的に処理できるというものである。このスクリーニング手法を、当新学術領域のメンバーである藤田らが開発した哺乳類細胞における細胞競合系に適用して、正常細胞または形質転換細胞においてノックダウンすることによって細胞競合が抑制または促進される遺伝子の探索を行う。

(2) トランスクリプトーム解析

細胞競合は、正常細胞と形質転換細胞という互いに性質が異なる細胞の間で観察される現象であることから、細胞競合現象が起こる最初の引き金は、両方またはどちらかの細胞による相手の細胞の異質さを認識することだと考えられる。この観点から、正常細胞と形質転換を誘導した細胞の発現遺伝子について継時的に網羅的トランスクリプトーム解析を行い、形質転換により発現が変化してくる遺伝子に着目して細胞競合への関与について検討する。

(3) 既知のストレス応答分子の関与の検討

細胞競合過程において、ストレス応答性 MAP キナーゼ経路 (JNK 経路、p38 経路) の関与が示唆されていた。そこで、MAP キナーゼ経路の最上流に位置する MAP3K の1つである ASK ファミリー分子を中心に、既知のストレス応答分子の細胞競合への関与について、上述した全自動ハイコンテンツイメージアナライザーを用いた定量系などを用いて解析する。

以上3つの方法により、これまでほとんど明らかになっていない哺乳類細胞における細胞競合に関わる具体的な分子を同定し、細胞競合現象を司る分子メカニズムを明らかにする。

4. 研究成果

(1) 全自動ハイコンテントイメージアナライザーを用いた細胞競合を定量的に測定する検出系の構築

スクリーニングを含めて細胞競合の分子機構の解析を行うためには、まず、細胞競合を高い精度で定量的に評価する検出系が必須であった。そこで、領域内の藤田らが確立していた MDCK 細胞を用いた複数の細胞競合系のうちから、全自動ハイコンテントイメージアナライザーによる解析に適したものとして Scribble ノックダウンにより誘導される細胞競合をモデルとして細胞競合を評価する検出系の構築を行った。Scribble 欠損による細胞競合モデルでは、形質転換細胞として、GFP を恒常的に発現し、Tetracycline (Tet) 添加依存的に shRNA により Scribble がノックダウン (KD) される細胞株を用いている。正常および変異細胞数検出のための画像解析として、核染色の画像で細胞の数と位置を認識し、個々の細胞の GFP シグナルの有無を検出して、GFP 陰性細胞 (= 正常細胞) の数および GFP 陽性細胞 (= Tet 誘導性 Scribble KD 細胞) の数を計測した。正常細胞と Tet 誘導性 Scribble KD 細胞を 10:1 の割合で混合し、Tet 有り無し状態で 48 時間培養すると、Tet 無しではほぼ 10:1 の割合が保たれるのに対し、Tet を加えて Scribble 欠損を誘導すると、欠損細胞特異的に細胞の数が半減する様子を検出でき、データの取得から数値解析までを均一化かつシームレスに行うことができる自動画像解析による細胞競合現象の定量化に成功した。

(2) ゲノムワイド siRNA スクリーニング

上記の全自動ハイコンテントイメージアナライザーを用いた細胞競合測定系は、スクリーニング系の検出力を定量的に評価できる Z'-factor の検討などから、ゲノムワイド siRNA スクリーニングを遂行するための十分な定量性と高いスループットを持つことが確認できたため、このシステムを用いてスクリーニングを行うこととした。一方で、確立された細胞競合モデルとして利用した MDCK 細胞はイヌ由来の細胞株であるため、所持しているヒトまたはマウスの siRNA ライブラリーでスクリーニングを行うことはできない。従って、ヒトまたはマウスの細胞株で同様の競合系を観察できる系の探索を行った。まず、ヒト細胞株である MCF-7 細胞において、Tet 添加依存的に shRNA により Scribble が KD される細胞を樹立し、正常細胞と混合して細胞競合が観察されるか試みたが、Scribble 欠損細胞の減少は非常にわずかな程度にとどまり、スクリーニングに十分な系とはならなかった。Scribble のノックダウン効率が不十分である可能性を考え、同じ MCF-7 細胞で CRISPR/Cas9 システムを利用して Scribble KO 細胞を樹立し、正常細胞と混合してみたが、ノックダウンの系と同様 Scribble KO 細胞の減少はわずかであり、MCF-7 細胞で Scribble 欠損を用いた細胞競合系の作成はできなかった。そこで、頂底極性を十分に維持し、MDCK 細胞と同じ腎臓由来のマウスの細胞株である IMCD-3 細胞を用いて細胞競合系の構築を試みたが、MCF-7 の場合と同様に MDCK 細胞のように十分な細胞競合による Scribble 欠損細胞の排除を観察できるモデルの構築には至らなかった。以上のように、ヒトまたはマウスの細胞株でスクリーニング系として利用できる段階まで明確な細胞競合現象を観察することができなかったため、本研究でゲノムワイド siRNA スクリーニングを実施することはできなかった。

(3) トランスクリプトーム解析

ゲノムワイド siRNA スクリーニングによる網羅的アプローチが難しくなった段階で、計画当初には無かった視点から別の遺伝子網羅的アプローチによる解析を行った。MDCK 細胞による細胞競合現象を詳細に観察すると、Scribble KD 細胞では時間とともに細胞が扁平になり核と細胞質が大きくなる形態変化が細胞競合に先立ち起きていることを見出した。また、細胞競合が起こる際に、正常細胞が Scribble KD 細胞の方に向かって誘引されるような挙動が観察された。これらのことから、細胞競合現象が起こる最初の引き金は、正常細胞と Scribble KD 細胞の違いが認識されることだと考えた。そこで、Tet 処置による Scribble KD の誘導から 30, 45, 60 時間後のトランスクリプトームを DNA microarray により解析し、Tet 処置をしない正常細胞のものと比較した。その結果、Scribble KD 細胞で顕著に発現が上昇してくる遺伝子として (i) 細胞内 NAD を消費し、NAD 量の低下を引き起こすと思われる遺伝子、(ii) 液性因子として放出され、細胞間の情報伝達に利用される遺伝子を同定した。これらの知見から解析を進めた結果、(i) について、実際に変異細胞内では NAD 濃度が低下していること、さらに NAD を増やす処置をすると Scribble KD 細胞の脆弱性がわずかながら回避されることを明らかにした。この結果から Scribble の欠損により細胞内で NAD 消費が増加し脆弱性を得ることが示唆された。また、(ii) については、Scribble の KD によって mRNA 発現が増加するだけでなく培養液中にこの液性因子が放出されることが明らかになった。さらに、この液性因子のノックダウンで細胞競合による Scribble KD 細胞の排除が緩和されることが全自動ハイコンテントイメージアナライザーを用いた測定系から明らかになり、Scribble 欠損細胞でこの液性因子が産生されることが細胞競合に必要であることが示唆された。また、この液性因子の受容体に対する阻害剤の処置や、正常細胞側でこの液性因子の受容体を KO してもやはり細胞競合による Scribble 欠損細胞の排除が抑制されることから、Scribble 欠損細胞から放出されたこの液性因子を正常細胞が感知することで細胞競合が起きていることが示唆された。

以上のように、ゲノムワイド siRNA スクリーニングによる網羅的探索は実施できなかったが、

代替的に網羅的トランスクリプトームの解析から細胞競合に関与する新たな遺伝子を同定できた。特に液性因子については、Scribble 欠損細胞と正常細胞の間でやり取りされる具体的な分子の同定に至っており、細胞競合現象の分子メカニズムの理解を進展させた。

(4) 既知のストレス応答分子に着目した candidate アプローチ

Scribble 欠損による細胞競合は p38 阻害剤により抑制されることが既に領域内の藤田らが報告していたが、p38 の活性化の経路やその役割は明らかになっていなかった。我々はストレス応答性 MAP キナーゼの上流で働く ASK1 に着目して細胞競合への関与を検討した。Scribble KD を誘導した MDCK 細胞において、ASK1 の活性化を示すリン酸化および p38 のリン酸化が観察されたため、ASK1 の KD を行ったところ、p38 のリン酸化が抑制された。このことから、Scribble KD による p38 の活性化は上流因子として ASK1 が働いていることが明らかになった。さらに、Scribble KD 細胞の方だけで ASK1 または p38 をノックダウンすると細胞競合による Scribble 欠損細胞の排除が抑制されたことから、Scribble 欠損による ASK1-p38 経路の活性化が細胞競合において必要であることが明らかになった。さらに興味深いことに、トランスクリプトーム解析から明らかにした細胞競合に必要な液性因子の Scribble 欠損細胞での発現は、ASK1 または p38 のノックダウンにより顕著に抑制されることも見出した。これらの結果から、Scribble 欠損細胞で活性化する ASK1-p38 経路は細胞競合に必要な液性因子の発現を介して細胞競合に関与することが示唆された。

以上のように、本研究では網羅的解析から得られた分子と candidate アプローチから関与が明らかになった分子が一連のシグナル伝達経路に位置することが明らかになり、これまで未知であった Scribble 欠損により誘導される細胞競合について新しい分子メカニズムを提示した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 48 件)

1. Tsuburaya, N., Homma, K., Higuchi, T., Balia, A., Yamakoshi, H., Shibata, N., Nakamura, S., Nakagawa, H., Ikeda, S., Umezawa, N., Kato, N., Yokoshima, S., Shibuya, M., Shimonishi, M., Kojima, H., Okabe, T., Nagano, T., Naguro, I., Imamura, K., Inoue, H., Fujisawa, T., and Ichijo, H. A small-molecule inhibitor of SOD1-Derlin-1 interaction ameliorates pathology in an ALS mouse model.
Nat. Commun., 9, 2668 (2018). doi: 10.1038/s41467-018-05127-2
2. Kasuya, G., Nakane, T., Yokoyama, T., Jia, Y., Inoue, M., Watanabe, K., Nakamura, R., Nishizawa, T., Kusakizako, T., Tsutsumi, A., Yanagisawa, H., Dohmae, N., Hattori, M., Ichijo, H., Yan, Z., Kikkawa, M., Shirouzu, M., Ishitani, R., Nureki, O. Cryo-EM structures of the human volume-regulated anion channel LRRC8.
Nat. Struct. Mol. Biol., 25, 797-804 (2018). doi: <https://doi.org/10.1101/331207>
3. Imamura, K., Yoshitane, H., Hattori, K., Yamaguchi, M., Yoshida, K., Okubo, T., Naguro, I., Ichijo, H. and Fukada, Y. ASK family kinases mediate cellular stress and redox signaling to circadian clock.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 115, 3646-3651 (2018). doi: 10.1073/pnas.1719298115.
4. Watanabe, K., Umeda, T., Niwa, K., Naguro, I. and Ichijo, H. A PP6-ASK3 module coordinates the bidirectional cell volume regulation under osmotic stress.
Cell Rep., 22, 2809-2817 (2018). doi: 10.1016/j.celrep.2018.02.045.
5. Hirata, Y., Katagiri, K., Nagaoka, K., Morishita, T., Kudoh, Y., Hatta, T., Naguro, I., Kano, K., Udagawa, T., Natsume, T., Aoki, J., Inada, T., Noguchi, T., Ichijo, H. and Matsuzawa, A. TRIM48 promotes ASK1 activation and cell death through ubiquitination-dependent degradation of the ASK1 negative regulator PRMT1.
Cell Rep., 21, 2447-2457 (2017). doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.007.
6. Hattori, K., Ishikawa, H., Sakauchi, C., Takayanagi, S., Naguro, I., Ichijo, H. Cold stress-induced ferroptosis involves the ASK1-p38 pathway.
EMBO Rep., 18, 2067-2078 (2017). doi: 10.15252/embr.201744228.
7. Kamiyama, M., Shirai, T., Tamura, S., Suzuki-Inoue, K., Ehata, S., Takahashi, K., Miyazono, K., Hayakawa, Y., Sato, T., Takeda, K., Naguro, I. and Ichijo, H. ASK1 facilitates tumor metastasis through phosphorylation of an ADP receptor P2Y12 in platelets.
Cell Death Differ., 24, 2066-2076 (2017). doi: 10.1038/cdd.2017.114.

8. Chaikuad, A., Chaikuad, A., Filippakopoulos, P., Marcisin, S. R., Picaud, S., Sekine, S., Ichijo, H., Engen, J. R., Takeda, K. and Knapp, S. Structures of PGAM5 provide insight into active site dynamics and multimeric assembly.
Structure, 25, 1089-1099.e3 (2017). doi: 10.1016/j.str.2017.05.020
9. Imamura, K., Izumi, Y., Watanabe, A., Tsukita, K., Woltjen, K., Yamamoto, T., Hotta, A., Kondo, T., Kitaoka, S., Ohta, A., Tanaka, A., Watanabe, D., Morita, M., Takuma, H., Tamaoka, A., Kunath, T., Wray, S., Furuya, H., Era, T., Makioka, K., Okamoto, K., Fujisawa, T., Nishitoh, H., Homma, K., Ichijo, H., Julien, J.-P., Obata, N., Hosokawa, M., Akiyama, H., Kaneko, S., Ayaki, T., Ito, H., Kaji, R., Takahashi, R., Yamanaka, S. and Inoue, H. iPSC-based drug repositioning identifies the Src/c-Abl pathway as a therapeutic target for ALS motor neurons.
Sci. Transl. Med., 9, pii: eaaf3962 (2017). doi: 10.1126/scitranslmed.aaf3962.
10. Koizumi, S., Irie, T., Hirayama, S., Sakurai, Y., Yashiroda, H., Naguro, I., Ichijo, H., Hamazaki, J. and Murata, S. The aspartyl protease DDI2 activates Nrf1 to compensate for proteasome dysfunction.
eLIFE, 5, pii: e18357 (2016). doi: 10.7554/eLife.18357.
11. Hattori, K., Naguro, I., Okabe, K., Funatsu, T., Furutani, S., Takeda, K. and Ichijo, H. ASK1 signaling regulates brown and beige adipocyte function.
Nat. Commun., 7:11158 (2016). doi: 10.1038/ncomms11158
12. Sekine, S., Yao, A., Hattori, K., Sugawara, S., Naguro, I., Koike, M., Uchiyama, Y., Takeda, K. and Ichijo, H. The ablation of mitochondrial protein phosphatase Pgam5 confers resistance against metabolic stress.
EBioMedicine, 5, 82-92 (2016). doi: 10.1016/j.ebiom.2016.01.031
13. Fujisawa, T., Takahashi, M., Tsukamoto, Y., Yamaguchi, N., Nakoji, M., Endo, M., Kodaira, H., Hayashi, Y., Nishitoh, H., Naguro, I., Homma, K. and Ichijo, H. The ASK1-specific inhibitors K811 and K812 prolong survival in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis.
Hum. Mol. Genet., 25, 245-253 (2016). doi: 10.1093/hmg/ddv467
14. Kadowaki, H., Nagai, A., Maruyama, T., Takami, Y., Fitrah, P.S., Kato, H., Honda, A., Hatta, T., Natsume, T., Sato, T., Kai, H., Ichijo, H. and Nishitoh, H. Preemptive quality control protects the ER from protein overload via the proximity of ERAD components and SRP.
Cell Rep., 13, 944-956 (2015). doi: 10.1016/j.celrep.2015.09.047
15. Okazaki, T., Higuchi, M., Takeda, K., Iwatsuki-Horimoto, K., Kiso, M., Miyagishi, M., Yanai, H., Kato, A., Yoneyama, M., Fujita, T., Taniguchi, T., Kawaoka, Y., Ichijo, H. and Gotoh, Y. The ASK family kinases differentially mediate induction of type I interferon and apoptosis during the antiviral response.
Sci. Signal., 8, ra78 (2015). doi: 10.1126/scisignal.aab1883
16. Miyakawa, K., Matsunaga, S., Kanou, K., Matsuzawa, A., Morishita, R., Kudoh, A., Shindo, K., Yokoyama, M., Sato, H., Kimura, H., Tamura, T., Yamamoto, N., Ichijo, H., Takaori-Kondo, A. and Ryo, A. ASK1 restores the antiviral activity of APOBEC3G by disrupting HIV-1 Vif-mediated counteraction.
Nat. Commun., 6, 6945 (2015). doi: 10.1038/srep18710
17. Mosallanejad, K., Sekine, Y., Ishikura-Kinoshita, S., Kumagai, K., Nagano, T., Matsuzawa, A., Takeda, K., Naguro, I. and Ichijo, H. The DEAH-Box RNA Helicase DHX15 activates NF- κ B and MAPK signaling downstream of MAVS during antiviral responses.
Sci. Signal., 7, ra40 (2014). doi: 10.1126/scisignal.2004841
18. Maruyama, T., Araki, T., Kawarazaki, Y., Naguro, I., Heynen, S., Aza-Blanc, P., Ronai, Z., Matsuzawa, A. and Ichijo, H. Roquin-2 promotes ubiquitin-mediated degradation of ASK1 to regulate stress responses.
Sci. Signal., 7, ra8 (2014). doi:10.1126/scisignal.2004822.

〔学会発表〕(計 23 件)

1. Motoyuki Ogawa, Toshitaka Nakamura, Isao Naguro, Hidenori Ichijo, FGF21 secreted from Scribble-deficient cells induces cell competition, Keystone Symposia - Poster Abstracts Cell Competition in Development and Disease (B6), 2019年2月24日-28日, USACalifornia.
2. 小川基行, 中村俊崇, 名黒功, 一條秀憲, FGF21 による Scribble 欠損細胞の排除機構の解析, 第41回日本分子生物学会年会, 2018年11月28日-30日, 神奈川県横浜市
3. 河原崎陽介, 小川基行, 中村俊崇, 名黒功, 一條秀憲, Scribble KD による SARM1 の発現上昇が細胞脆弱性を誘導する, 第3回メカノバイオロジー学会, 2018年3月14日-15日, 東京都文京区
4. 小川基行, 河原崎陽介, 中村俊崇, 名黒功, 一條秀憲, 細胞競合における FGF1 及び FGF21 による Scribble 欠損細胞の排除機構の解析, 第3回メカノバイオロジー学会, 2018年3月14日-15日, 東京都文京区
5. 河原崎陽介, 小川基行, 名黒功, 一條秀憲, 細胞競合時に起きる細胞自立的な変化を担う分子群の網羅的解析, 第39回日本分子生物学会年会, 2016年11月30日-12月2日, 神奈川県横浜市
6. 小川基行, 河原崎陽介, 名黒功, 一條秀憲, 哺乳類培養細胞を用いた新たな細胞競合モデル系の構築, 第39回日本分子生物学会年会, 2016年11月30日-12月2日, 神奈川県横浜市

〔図書〕(計 1 件)

1. Ichijo, H. and Naguro, I. (Guest Editors), Advances in Biological Regulation “ASK family kinases and stress response in physiology and pathology” Elsevier, 総ページ数 90 (2017).

6. 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
なし

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、研究者個人に帰属されます。