

令和元年6月19日現在

機関番号：13101

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：26115008

研究課題名（和文）血管ニッチによって制御されるステムセルエイジングと加齢関連疾患発症機序の解明

研究課題名（英文）Role of Vascular Niche in Stem Cell Aging

研究代表者

南野 徹（Tohru, Minamino）

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：90328063

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 90,500,000円

研究成果の概要（和文）：

加齢やゲノムストレスに伴う様々な刺激が、どのように血液幹細胞のニッチ（間葉系細胞・類洞血管細胞）の老化に影響を与えるか、ニッチの老化がどのように血液幹細胞の機能不全に関与しているかについてはよく知られていない。そこで本研究では、血管ニッチの老化に焦点を当てて研究を進めることとした。加齢マウスや放射線暴露モデル、血管特異的p53/Mdm遺伝子改変マウスを用いて解析を進めた結果、血管ニッチにおける老化シグナルの活性化が、血液幹細胞のステムセルエイジングを促進することが明らかとなった。さらに同様のマウスモデルを用いて、心不全や生活習慣病における血管老化シグナルの活性化の意義を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管特異的p53/Mdm遺伝子改変マウスを用いた血管ニッチと幹細胞システムの検討によって、血管ニッチにおける老化シグナルの活性化がステムセルエイジングに大きなインパクトを与えていることが明らかとなった。一方、老化シグナルを直接標的とする抗老化治療はがん化の危険があり臨床応用が困難である。これに対して、本研究で同定したSeno-metaboliteやSeno-antigenを標的とした治療は、がん化の懸念がなく、様々な加齢関連疾患（アルツハイマー病やFrailty、サルコペニア、慢性腎臓病、肺疾患、循環器疾患、代謝疾患など）への臨床応用が見込まれる。

研究成果の概要（英文）：

We have previously reported that p53 is activated in blood vessels by various stresses and contributes to tissue dysfunction and metabolic abnormalities. We hypothesized that hematopoietic insults also affect bone marrow vascular niche. We herein demonstrated that p53 becomes activated in BM endothelial cells upon hematopoietic stresses such as irradiation and chemotherapeutic treatments. The conditional activation of p53 in VE-cadherin+ vascular niche cells by deleting Mdm2 induced the expression of p53 target genes specifically in vascular endothelial cells, resulting in the dilation and collapse of vascular endothelial cells and reductions in perivascular mesenchymal stromal cell numbers. Consequently, hematopoietic stem cells (HSCs) failed to maintain dormancy, mobilized to the periphery, and were significantly depleted. Our results indicate that various hematopoietic insults affect HSCs not only directly, but also indirectly by altering vascular integrity.

研究分野：循環器内科

キーワード：細胞老化 血管ニッチ

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

1. 研究開始当初の背景

通常ヒト正常体細胞は、ある一定回数分裂増殖後、細胞老化とよばれる分裂停止状態となる。テロメアの短縮をはじめとした様々な DNA ダメージシグナルが p53/p21 や p16 を活性化することで細胞老化が誘導される。ヒト培養細胞の寿命はドナーの年齢に相関すること、また、早老症候群患者より得られた培養細胞の寿命は有意に短いこと、さらに、老化細胞の形質変化が加齢に伴う様々な病的老化の表現系に類似していることなどが報告されている。そこで我々は、老化研究を「細胞レベルの老化が個体老化の一部の形質、特に加齢に伴う病的老化形質を担う」という細胞老化仮説に基づいて始めることにした。

これまでの研究で我々は、ヒト動脈硬化巣に老化血管細胞の集積が認められること (Circulation 2002)、老化血管細胞が様々な血管機能障害の形質 (NO 産生の低下や炎症分子の発現の亢進など) を示すことで、動脈硬化やインスリン抵抗性の発症・進展に関与していることを、血管特異的 p53 欠失マウスや p21 欠失マウスを用いた解析によって明らかにした (Circulation 2003, Circulation 2006, EMBO J 2004, Cell Rep 2014)。また、肥満マウスや 2 型糖尿病患者の内臓脂肪においても老化細胞が蓄積しており、p53/p21 シグナルの活性化とともに慢性炎症を惹起し、インスリン抵抗性を誘導していた。これらの形質は、脂肪特異的 p53 欠失によって改善したことから、脂肪組織における老化細胞の蓄積が、2 型糖尿病の発症・進展に重要であることが明らかとなった (Nat Med 2009)。さらに、心不全の病態において、心臓組織内の心筋・血管・マクロファージの p53 シグナルの活性化がその発症・進展に関与していること (Nature 2007, JMCC 2015)、心不全に伴って脂肪組織における p53 シグナルの活性化が惹起されることでさらに心機能が負に制御されていること、これらの悪循環は脂肪組織特異的 p53 欠失・抑制により改善することを明らかにしてきた (Cell Metab 2012)。以上の結果は、p53 依存性老化シグナルの活性化が病的老化に関与しており、その活性化を抑制することによって動脈硬化や心不全、糖尿病などの加齢関連疾患の発症・進展を抑制できる可能性を示唆する (Circ Res 2007, Nat Rev Cardiol 2008, Cell Metab 2014)。

様々な組織において、血管は幹細胞ニッチとして働き、幹細胞の機能制御にきわめて重要な機能を有する (Morrison and Scadden *Nature* 2014, Pannerec et al. *Trends Mol Med* 2012, Goldman and Chen *Nat Neurosci* 2012, Berry et al. *Development* 2013)。血管は幹細胞の足場としてのみならず、幹細胞の特殊な酸素濃度指向性や代謝を維持するためにも極めて重要な役割を有する。血液幹細胞の増殖や分化についても、ニッチと呼ばれる微小環境が重要な役割を持っている。多くの血液幹細胞は血管の近くに存在することが知られている。具体的には、約 80% の血液幹細胞は類洞の血管細胞近くに存在し、10% は小血管に、残りの細胞は移行帯に存在する血管近くに存在する。CXC-chemokine ligand 12 (CXCL12) や stem cell factor (SCF) は、主要なニッチ因子として知られており、血液幹細胞の維持に重要な役割を持っている。血管周囲に存在する間葉系細胞はニッチとして働き、高レベルの CXCL12 や SCF を発現しており、レプチン受容体が陽性であることが知られている。

一方で、申請者らを含めた複数のグループは、加齢や過食といったストレスにより、p53 依存性シグナルの活性化と老化細胞の蓄積が促進される現象を確認している。p53 は酸化ストレスや低酸素、がん原性刺激など様々な刺激によって活性化され、組織における細胞老化を促進することで、様々な加齢関連疾患、すなわち、動脈硬化や心不全、糖尿病などに関与する。これらの変化は、長寿をもたらすカロリー制限によって抑制されることから、加齢関連疾患の発症・進展に強く関与するものと想定される。興味深いことに、こうした p53 シグナルの活性化は全ての細胞で均一に誘導されるわけではない。申請者らは、「ヒトは血管から老いる」と言われるように、加齢や過栄養などのストレスによってまず血管において p53 シグナルが活性化され、その後、臓器・組織の老化が進行することを示唆してきた。しかしながら、これらの老化シグナルが、血液幹細胞の血管ニッチ環境に与える影響については知られていない。

2. 研究の目的

血液幹細胞は、生物の生涯にわたって、炎症や感染、ゲノムストレスなど様々な外的刺激に暴露される。これらの刺激は、血液幹細胞の細胞数を減らすばかりでなく、その機能を低下させることで、病的老化や悪性化、すなわち、幹細胞老化の原因となっている。しかしこれらの刺激が、どのように血液幹細胞のニッチ (間葉系細胞・類洞血管細胞) の老化に影響を与えるか、ニッチの老化がどのように血液幹細胞の機能不全に関与しているかについてはよく知られていない。そこで本研究では、ニッチの老化に焦点を当てて研究を進めることとした。

3. 研究の方法

申請者らはこれまでの研究において、組織特異的 p53 ノックアウトマウスモデルを確立し、心臓や脂肪組織における p53 の活性化が、それぞれ心不全や糖尿病の発症に重要であることを明らかにした。これまでの検討により、加齢や過食などのストレスによって、まず血管におい

て p53 シグナルが活性化し細胞老化様形質が出現する。その後、臓器の機能異常が進行することを観察している。この際、血管ニッチにおける p53 依存性老化シグナルの活性化が、ニッチと組織幹細胞とのコミュニケーションの不調を誘導し、臓器・組織の機能不全や再生能の低下をもたらしている可能性が想定される。この仮説を検証するため、まず、放射線照射や抗がん剤などのストレスを加えることで、どのように血管ニッチが老化性変化をきたし、血液幹細胞や前駆細胞に影響を与えるかを検討した。次に、タモキシフェンによって p53 の抑制因子である Mdm2 の欠失を血管特異的に誘導するシステムを用いて、血管内皮特異的に p53 シグナルを活性化するマウスモデルを確立した。血管内皮 p53 活性化に伴う血管ニッチの組織学的変化を検証しつつ、血液幹細胞や前駆細胞の量的変化や質的变化について FACS や PCR 解析などを用いて検証した。これらのマウスの形質を放射線照射や抗がん剤などのストレスを与えたマウスと比較した。

4 . 研究成果

血液幹細胞の老化を促進する因子として放射線暴露や 5-FU などの化学療法治療薬が知られている。しかし、その血管ニッチに対する影響については知られていない。そこでまずマウスに対して放射線暴露や 5-FU 投与を行なった後、骨髄組織の血管ニッチの形質について調べてみたところ、老化シグナル p53 の活性化と血管細胞数の減少が認められた。PCR 解析では、p53 の標的遺伝子である Cdkn1a や Bax の発現の増加も認められた。組織学的には、血管ニッチ構造の異常な変化も認められた。次に、高齢マウスにおいて血管ニッチの形質を検証したところ、同様に p53 発現の増加を認めた。

次に血管内皮細胞特異的 Mdm2 ノックアウトマウスを確立し、p53 活性化による血管ニッチ機能の変化を観察した。高容量のタモキシフェンにより p53 の活性化を誘導すると、マウスは 2 週間以内に死亡したが、これらの形質は p53 をダブルノックアウトすることで、完全に改善することから、p53 依存的な形質であることが確認された。低用量のタモキシフェン誘導では血管ニッチにおける p53 の活性化は認めるものの、致死的な形質を認めなかった。このような条件においては、血管ニッチ構造の異常な変化とともに、血液幹細胞死数の増加、血液幹細胞や前駆細胞数の減少を認めた。これらの変化は、p53 をダブルノックアウトすることで、完全に改善することから、p53 依存的な形質であることが確認された。また、血管ニッチ機能の低下に伴って、末梢循環での血液前駆細胞の流出が促進されており、細胞分裂の促進傾向も認められた。

最後にこれらの血管ニッチにおける網羅的とランスクリプトーム解析を行ったところ、p53 活性化に伴ってその標的遺伝子群の発現の亢進、CXCL12 や SCF などの発現低下を認めた。

本研究において、加齢や放射線暴露、5-FU などの化学療法治療薬による形質が、血管内皮細胞特異的 Mdm2 ノックアウトマウスに類似していたことは、ストレスがまず血管ニッチの形質変化をもたらすことで、血液幹細胞のステムネスに影響を及ぼしていることが明らかとなった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 67 件のうち抜粋)

1. Ikegami R, Shimizu I, Sato T, Yoshida Y, Hayashi Y, Suda M, Katsuomi G, Li J, Wakasugi T, Minokoshi Y, Okamoto S, Hinoi E, Nielsen S, Zenius Jespersen N, Scheele C, Soga T, Minamino T. Gamma-aminobutyric acid signaling in brown adipose tissue promotes systemic metabolic derangement in obesity. **Cell Rep**. 2018; 24: 2827-2837.
2. Teratani T, Tomita K, Suzuki T, Furuhashi H, Irie R, Nishikawa M, Yamamoto J, Hibi T, Miura S, Minamino T, Oike Y, Hokari R, and Kanai T. Aortic carboxypeptidase-like protein, a WNT ligand, exacerbates nonalcoholic steatohepatitis. **J Clin Invest**. 2018; 128: 1581-1596.
3. Otuki S, Izumi D, Suda M, Sato A, Hasegawa Y, Yagihara N, Iijima K, Chinushi M, Fuse I, Minamino T. Effects of direct oral anticoagulants at the peak phase, the trough phase, and after vascular injury. **J Am Coll Cardiol**. 2018; 71: 102-104.
4. Si S, Nakajima-Takagi Y, Iga T, Tsuji M, Hou L, Oshima M, Koide S, Saraya A, Yamazaki S, Takubo K, Kubota Y, Minamino T, Iwama A. Hematopoietic insults damage bone marrow niche by activating p53 in vascular endothelial cells. **Exp Hematol**. 2018; 63: 41-51.
5. Furuuchi R, Shimizu I, Yoshida Y, Hayashi Y, Ikegami R, Suda M, Katsuomi G, Wakasugi T, Nakao M, Minamino T. Boysenberry polyphenol inhibits endothelial dysfunction and improves vascular health. **PLoS One**. 2018; 13: e0202051.
6. Suda M, Shimizu I, Yoshida Y, Hayashi Y, Ikegami R, Katsuomi G, Wakasugi T, Yoshida Y, Okuda S, Soga T, Minamino T. Inhibition of dipeptidyl peptidase-4 ameliorates cardiac ischemia and systolic dysfunction by up-regulating the FGF-2/EGR-1 pathway. **PLoS One**. 2017; 12: e0182422.
7. Nishiuchi S, Makiyama T, Aiba T, Nakajima K, Hirose S, Kohjitani H, Yamamoto Y, Harita T,

- Hayano M, Wuriyanghai Y, Chen J, Sasaki K, Yagihara N, Ishikawa T, Onoue K, Murakoshi N, Watanabe I, Ohkubo K, Watanabe H, Ohno S, Doi T, Shizuta S, Minamino T, Saito Y, Oginosawa Y, Nogami A, Aonuma K, Kusano K, Makita N, Shimizu W, Horie M, Kimura T. Gene-based risk stratification for cardiac disorders in LMNA mutation carriers. **Circ Cardiovasc Genet.** 2017; 10. pii: e001603. doi:10.1161/CIRCGENETICS.116.001603.
8. Yagihara N, Watanabe H, Barnett P, Duboscq-Bidot L, Thomas AC, Yang P, Ohno S, Hasegawa K, Kuwano R, Chatel S, Redon R, Schott JJ, Probst V, Koopmann TT, Bezzina CR, Wilde AA, Nakano Y, Aiba T, Miyamoto Y, Kamakura S, Darbar D, Donahue BS, Shigemizu D, Tanaka T, Tsunoda T, Suda M, Sato A, Minamino T, Endo N, Shimizu W, Horie M, Roden DM, Makita N. Variants in the SCN5A promoter associated with various arrhythmia phenotypes. **J Am Heart Assoc.** 2016; 5. doi: 10.1161/JAHA.116.003644.
 9. Yoshida Y, Shimizu I, Katsuumi G, Jiao S, Suda M, Hayashi Y, Minamino T. p53-Induced inflammation exacerbates cardiac dysfunction during pressure overload. **J Mol Cell Cardiol.** 2015; 85: 183-198.
 10. Sumida T, Naito AT, Nomura S, Nakagawa A, Higo T, Hashimoto A, Okada K, Sakai T, Ito M, Yamaguchi T, Oka T, Akazawa H, Lee JK, Minamino T, Offermanns S, Noda T, Botto M, Kobayashi Y, Morita H, Manabe I, Nagai T, Shiojima I, Komuro I. Complement C1q-induced activation of β -catenin signalling causes hypertensive arterial remodelling. **Nat Commun.** 2015; 6: 6241.
 11. Suzuki H, Kayama Y, Sakamoto M, Iuchi H, Shimizu I, Yoshino T, Katoh D, Nagoshi T, Tojo K, Minamino T, Yoshimura M, Utsunomiya K. Arachidonate 12/15-lipoxygenase-induced inflammation and oxidative stress are involved in the development of Diabetic Cardiomyopathy. **Diabetes** 2015; 64: 618-630.
 12. Ito TK, Yokoyama M, Yoshida Y, Nojima A, Kassai H, Oishi K, Okada S, Kinoshita D, Kobayashi Y, Fruttiger M, Aiba A, Minamino T. A crucial role for CDC42 in senescence-associated inflammation and atherosclerosis. **PLoS One** 2014; 9: e102186.
 13. Yoshida Y, Hayashi Y, Suda M, Tateno K, Okada S, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Yamashita M, Kobayashi Y, Shimizu I, Minamino T. Notch signaling regulates the lifespan of vascular endothelial cells via a p16-dependent pathway. **PLoS One** 2014; 9: e100359.
 14. Yokoyama M, Nakagomi A, Moriya J, Shimizu I, Nojima A, Yoshida Y, Ichimiya H, Kamimura N, Kobayashi Y, Ohta S, Fruttiger M, Lozano G, Minamino T. Inhibition of endothelial p53 improves metabolic abnormalities related to dietary obesity. **Cell Rep.** 2014; 7: 1691-1703.
 15. Maida Y, Yasukawa M, Okamoto N, Ohka S, Kinoshita K, Totoki Y, Ito TK, Minamino T, Nakamura H, Yamaguchi S, Shibata T, Masutomi K. Involvement of TERT in heterochromatin maintenance. **Mol Cell Biol.** 2014; 34: 1576-1593.
 16. Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. **J Mol Cell Cardiol.** 2016; 97: 245-262.
 17. Shimizu I, Yoshida Y, Minamino T. Maintenance of subcutaneous fat homeostasis improves systemic metabolic dysfunction in obesity. **Diabetes** 2015; 64: 3984-3986.
 18. Shimizu I, Yoshida Y, Suda M, Minamino T. DNA damage response and metabolic disease. **Cell Metab.** 2014; 20: 967-977.

〔学会発表〕(計 71 件招聘講演のうち抜粋)

1. Minamino T. Targeting Cellular Aging for Cardio-metabolic Disease. The 3rd Annual 2019 International Hawaii Cardiovascular Symposium, 2/6/2019, Honolulu, Hawaii, USA
2. Minamino T. Targeting Cardiovascular Senescence through Senescence-associated Glycoprotein. The 14th Annual Winter Research Meeting on Translational Heart Failure Research, 1/26/2019, Les Diablerets, Switzerland
3. Minamino T. Novel Aspects of Direct Oral Anticoagulants. Joint Session with AHA & The Japanese Circulation Society, Scientific Session 2018, American Heart Association, 11/11/2018, Chicago, USA
4. Minamino T. Targeting metabolites for HF treatment. The 62nd Annual Scientific Meeting of the Korean Society of Cardiology, JCS-KSC Joint Symposium: Drug Discovery for Heart Failure, 10/11/2018, Seoul, Korea
5. Minamino T. Targeting cellular aging for the treatment of cardio-metabolic disease. Scott Lecturer Invitee, 9TH ANNUAL ALLIANCE FOR HEALTHY AGING CONFERENCE, 10/5/2018, Rochester, MN, USA
6. Minamino T. White and brown adipose tissue as a therapeutic target for cardiovascular diseases.

- ESC 2018 Symposium: Adipose tissue and cardiovascular disease. Joint with the Japanese Circulation Society, 8/26/2018, Munich, Germany
7. Minamino T. Targeting cellular aging for the treatment of cardiovascular diseases. BCVS 2018 Scientific Sessions Mitochondrion and Heart Failure, 2018/7/30, Grand Hyatt San Antonio, TX, USA
 8. Minamino T. Role of Cellular Aging in Cardio-metabolic Disease. 24th IUBMB Congress & 15th FAOBMB Congress (IUBMB SEOUL 2018), 2018/6/8 COEX Seoul, Korea
 9. Minamino T. Targeting cellular aging for the treatment of cardiovascular diseases. Symposium “Myocardial aging and cardiometabolic disorders” 2018/6/4 Auditorium de la Galerie de l’Evolution Museum, d’Histoire Naturelle, Paris, France
 10. Minamino T. Targeting cellular senescence in cardiovascular aging. International Symposium Advances in Heart Failure 2018/1/4-5 King’s College London, UK
 11. Minamino T. DNA Damage and Diabetes. DNA Damage Response and Cardio-metabolic Disease. AHA/Japanese Circulation Society Joint Session. AHA Scientific Sessions 2017 11/12/2017 Anaheim, CA, USA
 12. Minamino T. Hypertension, Diabetes, and Vascular Aging. Hypertension Seoul 2017 The Korean Society of Hypertension 2017/11/3 Seoul, Korea
 13. Minamino T. A critical role of cellular senescence in metabolic and cardiovascular disease. 6th EU-US Conference on Repair of Endogenous DNA Damage 2017/9/27 Udine, Italy
 14. Minamino T. Pathophysiological mechanisms of heart failure in diabetes. Joint with the Japanese Circulation Society. European Society of Cardiology 2017 2017/8/29 Barcelona, Spain
 15. Minamino T. Cellular senescence in cardiovascular disease - The future. Symposium, European Society of Cardiology 2017 2017/8/28 Barcelona, Spain
 16. Minamino T. Cellular Senescence and Age-associated Diseases. Keystone Symposia Conference Aging and Mechanisms of Aging-Related Disease (E2) 5/18/2017 Yokohama
 17. Minamino T. Hypertension, Diabetes, and Vascular Aging. The 47th Annual Convention & Scientific Session of the Taiwan Society of Cardiology APSC-TSOC Joint Session 2017/5/6 Taipei International Convention Center, Taipei, Taiwan
 18. Minamino T. Cellular senescence and cardio metabolic disease. Joint with the Japanese Circulation Society. European Society of Cardiology 2016 8/28/2016 Rome, Italy
 19. Minamino T. Future direction for research in metabolism, adipose tissue and cardiovascular disease. Metabolism, adipose tissue and cardiovascular disease. European Society of Cardiology 2016 8/27/2016 Rome, Italy
 20. Minamino T. A critical role of cellular senescence in metabolic and cardiovascular disease. The 26th International Conference the Korean Society for Gerontology 6/16/2016 Hotel Laonzena, Daegu, Korea
 21. Minamino T. Roles of cellular aging signaling in lifestyle-related disease. Is anti-senescence therapy feasible? Robert and Arlene Kogod Center-Successful Aging Monday Seminar 2/8/2016 Mayo Clinic, Rochester, MN
 22. Minamino T. The functional implication of DNA damage in cardiometabolic disease. The 59th Annual Scientific Meeting of the Korean Society of Cardiology 10/15-17/2015 Seoul, Korea
 23. Minamino T. Therapeutic angiogenesis in Japan. The 59th Annual Scientific Meeting of the Korean Society of Cardiology 10/15-17/2015 Seoul, Korea
 24. Minamino T. Role of cellular aging in cardiovascular and metabolic disease. The 59th Annual Scientific Meeting of the Korean Society of Cardiology 10/15-17/2015 Seoul, Korea
 25. Minamino T. Metabolism, Adipose Tissue, and CVD. INTERNATIONAL SYMPOSIUM Cardiometabolic risk and Vascular Disease -from Mechanisms to Treatment- 2017/12/01 Karolinska Institute, Stockholm, Sweden
 26. Minamino T. Role of senescence-associated inflammation in lifestyle-related disease. 2015 International Cell Senescence Association 7/19-22/2015 Santiago de Compostela, Spain

〔図書〕(計 104 件のうち抜粋)

1. 南野 徹 近未来の心不全治療薬の展望 心臓 2019;5 1 : 377.
2. 池上龍太郎、清水逸平、吉田陽子、南野 徹 脂肪の量と質を制御する一老化による制御 実験医学 2018;36:2739-2743.
3. 南野 徹 細胞老化を標的とした循環代謝制御 血管 2018:41:1-7.

〔産業財産権〕

○出願状況（計 5 件のうち抜粋）

名称：老化細胞除去薬

発明者：南野徹

権利者：新潟大学

種類：特許

番号：特願 2016-167679

出願年：2016 年

国内外の別：国際

○取得状況（計 1 件）

名称：糖尿病の治療剤

発明者：南野徹、森谷純治

権利者：千葉大学

種類：特許

番号：特許第 5721211 号

取得年：2015 年

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

新潟大学大学院医歯学研究院循環器内科

<http://www.med.niigata-u.ac.jp/car/>

6 . 研究組織

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。