

令和元年6月6日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05529

研究課題名(和文) 脂質メタボリックスイッチ制御による幹細胞性維持および多分化能制御

研究課題名(英文) Modulation of lipid homeostasis in maintenance and directed differentiation of mesenchymal stem cells

研究代表者

犬塚 博之 (Inuzuka, Hiroyuki)

東北大学・歯学研究科・准教授

研究者番号：20335863

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：脂質代謝経路の調節による質の高い細胞分化誘導法確立の着想から、本研究では脂質代謝恒常性維持に重要なLipin1タンパク質の分解制御機構を明らかにすることで、細胞内脂質合成経路の任意の制御を可能とし、効率的で均一な幹細胞分化誘導法の開発につなげることを目的とした。本解析によりユビキチン・プロテアソーム系および栄養シグナル依存的なLipin1分解誘導経路を同定することが出来たことから、Lipin1分解調節を介した幹細胞分化制御法の試みに関する重要な知見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生医療研究において間葉系幹細胞の応用が進められているが、幹細胞代謝研究領域での脂質代謝調節に焦点を当てた研究は少ない。薬理的および遺伝学的アプローチにより脂質合成制御が幹細胞で可能となれば、効率的な細胞分化誘導のほか移植後細胞の脂肪細胞分化転換抑制にも応用可能となることから、本研究で得られた知見は高効率かつ安定的な幹細胞分化誘導法開発の基礎となると期待される。

研究成果の概要(英文)：Manipulating lipid biosynthesis in stem cells could be a potential approach for highly efficient directed differentiation of mesenchymal stem cells. In this study, we identified the molecular mechanisms of the proteasome-dependent degradation of Lipin1 that plays critical roles in lipid homeostasis. Our finding will provide insights into the development of novel strategies for the directed differentiation of mesenchymal stem cells through Lipin1 protein stability control.

研究分野：医歯薬学

キーワード：タンパク質分解 脂質代謝 Lipin1

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

1. 研究開始当初の背景

歯科再生医療において、歯髄幹細胞をはじめとした間葉系幹細胞の応用が進められている。間葉系幹細胞は中胚葉性組織に由来する体性幹細胞で、骨や血管、心筋、脂肪などの組織の再構築が可能とされている。幹細胞を用いた再生医療では、一定の細胞集団を維持しつつ目的外の細胞への分化転換を最小限に止めながら、目的の細胞集団に分化誘導することが求められることから、これまで様々な分化条件の検討による、質の高い分化誘導法確立の試みがなされている。本研究課題では、細胞内代謝調節経路、特に脂質代謝経路変換プログラミング制御を応用した、効率的な間葉系幹細胞分化誘導法確立の可能性に着目した。

2. 研究の目的

自己複製能と多分化能をもつ幹細胞は、環境に適応した固有の代謝調節経路を活性化し必要に応じた代謝産物を産生している。これら代謝変換プログラミングの制御機構を解明することは、幹細胞の維持・増幅や効率の良い分化誘導法の確立に重要である。そこで本研究では、細胞のエネルギー代謝や幹細胞維持に重要であることが考えられている SCF^{β-TRCP} E3 リガーゼ複合体の基質受容体サブユニット β-TRCP の機能に着目した。β-TRCP が幹細胞代謝変換制御因子の量的な調節に関与しているのではないかとこの発想のもと、その新規基質の探索を行った結果、脂質代謝関連酵素 Lipin1 を見いだした。

Lipin1 は、トリグリセリド合成経路中のジアシルグリセロール生成を触媒する一方で、転写共役因子として脂肪酸酸化関連遺伝子の発現を誘導しており、生体内での脂質代謝恒常性維持に必須の分子として機能している。本研究では、β-TRCP による Lipin1 タンパク質の分解調節機構を解明することで、間葉系幹細胞の維持や分化誘導の際に Lipin1 の分解制御を介して幹細胞脂質代謝経路の切り換えを可能とし、骨芽細胞などへの効率的な分化誘導法を確率することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) β-TRCP による Lipin1 タンパク質認識機構の分子メカニズムの同定

SCF^{β-TRCP} 複合体の基質受容体 β-TRCP は、リン酸化 Ser を含むコンセンサス認識配列 (リン酸化デグロン) を認識して基質と結合する。Lipin1 一次配列上の β-TRCP 結合配列同定のため、推定リン酸化デグロン配列の Ser 残基を Ala に置換した変異体 (Lipin1-S449/453A) を作製して β-TRCP との結合の有無を免疫沈降により確認した。さらに、デグロンリン酸化酵素同定のため、β-TRCP 基質プライミング酵素として報告がある一連のリン酸化酵素を Lipin1 と個々に 293T 細胞に共発現させ、Lipin1 発現減少の有無を調べた。次に、候補として絞り込んだリン酸化酵素を用いて、大腸菌で発現させた GST-Lipin1-WT と GST-Lipin1-S449/453A のリン酸化反応を行い、それら GST タンパク質と β-TRCP との結合を GST-pull-down 法により *in vitro* で確認した。

(2) β-TRCP による Lipin1 タンパク質安定性調節メカニズムの解析

内在性 β-TRCP による Lipin1 安定性調節機構の解析のため、β-TRCP ノックダウン細胞で細胞内 Lipin1 タンパク質蓄積の有無を確認した。さらに β-TRCP ノックダウン後の Lipin1 タンパク質量の増加が Lipin1 タンパク質安定化によることを証明するため、タンパク質合成阻害剤 (シクロヘキシミド、CHX) 処理細胞を用いて、CHX chase アッセイにより Lipin1 タンパク質半減期を解析した。また、野生型とデグロン配列変異型 Lipin1 の GST 組換えタンパク質をリン酸化酵素処理したのち、ポリユビキチン化実験を行うことで、β-TRCP に依存的な Lipin1 ポリユビキチン化の直接的な証明を行った。

(3) Lipin1 タンパク質分解を誘導する細胞内シグナル経路の同定

Lipin1 は、mTORC1 によるリン酸化を受けることで機能が抑制されることが報告されていることから、mTORC1 依存的な Lipin1 リン酸化が β-TRCP を介した Lipin1 分解に寄与している可能性を検討した。mTORC1 によるリン酸化部位全てを Ala 残基に置換した Lipin1 変異体および、mTORC1 特異的阻害剤 Torin を用いた解析により、mTORC1 による Lipin1 のリン酸化が、β-TRCP 依存的な Lipin1 分解を促進するか検討した。

(4) Lipin1 タンパク質分解経路と脂質合成経路との相互作用の解析

脂質合成調節因子である SREBP と Lipin1 との相互作用が報告されていることから、β-TRCP/Lipin1 経路が SREBP 経路を調節しているか検討するため、β-TRCP ノックダウン NIH-3T3 細胞を作製して、それに Lipin1 の野生型とデグロン配列変異体を安定発現させ、SREBP 結合エレメントレポーター遺伝子を用いて SREBP 活性の計測を行った。また、SREBP 下流標的遺伝子の mRNA 発現量を定量することで、同様に Lipin1 を介した SREBP 転写活性変化を数値化した。さらに、内在性 β-TRCP と Lipin1 をノックダウンし、SREBP 下流標的遺伝子の mRNA 発現量の定量、および細胞内トリグリセリド含量の測定を行った。さらに、細胞内には数千種類に及ぶ脂肪酸、リン脂質とそれら誘導体が存在することから、リポミクス解析により、コントロールおよび β-TRCP ノックダウン細胞でそれら脂質群のプロファイリングを比較した。

(5) β -TRCP ノックアウト細胞を用いた骨芽細胞分化誘導効率の評価

間葉系幹細胞を用いた骨芽細胞分化を指標とした幹細胞分化誘導効率評価の予備実験として、マウス骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 と CRISPR/Cas9 を用いて β -TRCP ノックアウト細胞株を作製し、骨芽細胞分化誘導効率と β -TRCP/Lipin1 シグナルの骨芽細胞分化における役割について検討を行った。

4. 研究成果

(1) β -TRCP による Lipin1 タンパク質認識機構の分子メカニズムの同定

はじめに、免疫沈降法により、内在性 Lipin1 と β -TRCP 蛋白質が細胞内で相互作用していることを確認した。次に Lipin1 における β -TRCP 認識部位同定のため、推定 β -TRCP コンセンサス結合配列内の Ser 残基を Ala に置換した Lipin1-S449/453A を作製し、免疫沈降、GST-pull-down アッセイに供したところ、Lipin1-S449/453A と β -TRCP 間の結合の解離が認められた。さらに、リン酸化酵素遺伝子導入 293T 細胞での Lipin1 分解アッセイにおいて、CK1 ϵ 過剰発現による Lipin1 タンパク質の減少が観察され、リン酸化を介して β -TRCP が Lipin1 の分解を調節する機構が示唆された。

(2) β -TRCP による Lipin1 タンパク質安定性調節メカニズムの解析

内在性 β -TRCP の Lipin1 タンパク質安定性調節への関与を証明するため、NIH3T3 および HeLa 細胞で β -TRCP をノックダウンし Lipin1 タンパク質量を調べたところ、Lipin1 細胞内蓄積が認められた。さらに β -TRCP ノックダウン細胞で CHX chase アッセイを行ったところ、 β -TRCP ノックダウンに伴い、Lipin1 タンパク質半減期の延長が認められた。次にこのタンパク質安定性調節がユビキチン化を介していることを調べるため、*in vitro* および 293T 細胞で β -TRCP ユビキチンアッセイを行なったところ、CK1 によるリン酸化に依存的なポリユビキチン鎖の付加が、デグロン変異体 Lipin1 では大きく減少していた。また、293T 細胞への CK1 阻害剤投与により細胞内での Lipin1 ポリユビキチン化の減少が観察された。この結果と一致して CK1 ϵ の過剰発現に伴い Lipin1 タンパク質半減期が短縮し、CK1 ϵ ノックダウン細胞において Lipin1 半減期が延長することが確認され、 β -TRCP と CK1 ϵ による Lipin1 安定性調節への関与が確認された。

(3) Lipin1 タンパク質分解を誘導する細胞内シグナル経路の同定

Lipin1 が mTORC1 によるリン酸化を介して機能抑制を受けるとの報告から、 β -TRCP による Lipin1 安定化調節に mTORC1 によるリン酸化が関与している可能性について検討した。mTORC1 のリン酸化サイトに変異を導入した Lipin1 変異体では、Lipin1 野生型と比較して CK1 ϵ 依存的なデグロンリン酸化が減衰し、それに伴い β -TRCP/Lipin1 間の結合の消失が観察された。mTORC1 特異的阻害剤 Torin 処理細胞においても同様に Lipin1 デグロンリン酸化の減衰と β -TRCP/Lipin1 間の結合消失が認められ、それに伴って Lipin1 タンパク質半減期の延長が確認された。このことから、CK1 ϵ と β -TRCP に依存的な Lipin1 タンパク質の分解には、mTORC1 による Lipin1 タンパク質のリン酸化が必要であることが確認された。

(4) Lipin1 タンパク質分解経路と脂質合成経路との相互作用の解析

β -TRCP 依存的な Lipin1 タンパク質安定性の調節が SREBP 活性に及ぼす影響を解析するため、 β -TRCP ノックダウン NIH-3T3 細胞で、レポーターアッセイを用いて SREBP 転写活性を計測した。Lipin1 野生型の安定発現株では、 β -TRCP ノックダウンに依存的な Lipin1 細胞内蓄積とそれに伴う SREBP 転写活性の低下が観察されたのに対し、デグロン配列に変異を導入した Lipin1 変異体発現細胞では、 β -TRCP ノックダウンの有無に関わらず変異型 Lipin1 の恒常的な安定化と SREBP 転写活性の低下が観察された。さらに、間葉系幹細胞解析のパイロット実験として、ヒト肝細胞 HepG2 の内在性 β -TRCP ノックダウン細胞株で細胞内トリグリセリド含量を測定したところ、SREBP の転写活性化と細胞内トリグリセリド増加が認められた。さらに質量分析計によるリピドミクス解析から、 β -TRCP をノックダウンした細胞株で、Lipin1 の安定化に伴い、細胞内のほぼ全てのトリアシルグリセロール誘導体の有意な減少が認められた。これらのことから、 β -TRCP が Lipin1 の分解を介して、細胞内脂質合成を促進していることが証明された。

(5) β -TRCP ノックアウト細胞を用いた骨芽細胞分化誘導効率の評価

間葉系幹細胞を用いた分化誘導評価のパイロット実験のため、骨芽細胞様細胞 3T3-E1 で β -TRCP を CRISPR/Cas9 によりノックアウトした細胞株を用いて分化誘導実験を行った。 β -TRCP1 ノックアウト細胞株とコントロール細胞を BMP で 10 日間処理することで骨芽細胞分化を誘導したのち、アルカリフォスファターゼ染色により分化誘導効率の評価を行った。その結果、骨芽細胞分化が β -TRCP をノックアウトした細胞株で対処群に比較してより効率的に誘導されることが確認され、Lipin1 の細胞内での活性の上昇が細胞分化を促進することが示唆された。今後これらの細胞でさらに Lipin1 をノックアウトしたのちに骨芽細胞分化が抑制されるか解析するとともに、リピドミクス解析により得られたプロファイリングと骨芽細胞分化

の相関について分析を行う。

以上の解析結果から、mTORC1によるLipin1のリン酸化が、CK1依存的なLipin1デグロンリン酸化を促進し、さらに次のステップとして β -TRCPによるLipin1への結合とユビキチン化を誘導することで、Lipin1タンパク質を分解に導く分子機構が明らかとなった。また、 β -TRCPはLipin1の分解を誘導することで脂質合成を促進することが示された。本解析結果から、Lipin1タンパク質安定化に必要な細胞培養条件の同定やLipin1タンパク質分解シグナル分子の阻害が、脂質代謝変換経路調節による効率的な幹細胞分化誘導を試みる上で重要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計16件)

- 1) Shimizu K, Nihira NT, Inuzuka H, Wei W. Physiological functions of FBW7 in cancer and metabolism. *Cellular Signaling*, 査読有、46、2018、pp15-22、DOI: 10.1016/j.cellsig.2018.02.009.
- 2) Huang LY, Zhao J, Chen H, Wan L, Inuzuka H, Guo J, Fu X, Zhai Y, Lu Z, Wang X, Han ZG, Sun Y, Wei W. SCFFBW7-mediated degradation of Brg1 Suppresses Gastric Cancer Metastasis. *Nature Communications*, 査読有、9(1)、2018、pp3569、DOI: 10.1038/s41467-018-06038-y.
- 3) Clement E, Inuzuka H, Nihira NT, Wei W, Toker A, Skp2-dependent reactivation of AKT drives resistance to PI3K inhibitors、*Science Signaling*、査読有、No.11(521)、2018、DOI: 10.1126/scisignal.aao3810
- 4) Ci Y, Li X, Chen M, Zhong J, North BJ, Inuzuka H, He X, Li Y, Guo J, Dai X. SCF β -TRCP E3 ubiquitin ligase targets the tumor suppressor ZNRF3 for ubiquitination and degradation. *Protein Cell*. 9(10)、査読有、2018、pp879-889、DOI: 10.1007/s13238-018-0510-2.
- 5) Takada M, Zhuang M, Inuzuka H, Zhang J, Zurlo G, Zhang J, Zhang Q, EglN2 contributes to triple negative breast tumorigenesis by functioning as a substrate for the FBW7 tumor suppressor、*Oncotarget*、査読有、No.8(4)、2017、pp6787-6795、DOI: 10.18632/oncotarget.14290
- 6) Dai X, Gan W, Li X, Wang S, Zhang W, Huang L, Liu S, Zhong Q, Guo J, Zhang J, Chen T, Shimizu K, Beca F, Blattner M, Vasudevan D, Buckley DL, Qi J, Buser L, Liu P, Inuzuka H, Beck AH, Wang L, Wild PJ, Garraway LA, Rubin MA, Barbieri CE, Wong KK, Muthuswamy SK, Huang J, Chen Y, Bradner JE, Wei W, Prostate cancer-associated SPOP mutations confer resistance to BET inhibitors through stabilization of BRD4、*Nature Medicine*、査読有、No.23(9)、2017、pp1063-1071、DOI: 10.1038/nm.4378
- 7) Takada M, Zhang W, Suzuki A, Kuroda TS, Yu Z, Inuzuka H, Gao D, Wan L, Zhuang M, Hu L, Zhai B, Fry CJ, Bloom K, Li G, Karpen GH, Wei W, Zhang Q, FBW7 Loss Promotes Chromosomal Instability and Tumorigenesis via Cyclin E1/CDK2-Mediated Phosphorylation of CENP-A、*Cancer Research*、査読有、No.77(18)、2017、pp4881-4893、DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1240
- 8) Nihira NT, Ogura K, Shimizu K, North BJ, Zhang J, Gao D, Inuzuka H, Wei W、Acetylation-dependent regulation of MDM2 E3 ligase activity dictates its oncogenic function、*Science Signaling*、査読有、2017、DOI: 10.1126/scisignal.aai8026
- 9) Liu L, Michowski W, Inuzuka H, Shimizu K, Nihira NT, Chick JM, Li N, Geng Y, Meng AY, Ordureau A, Kolodziejczyk A, Ligon KL, Bronson RT, Polyak K, Harper JW, Gygi SP, Wei W, Sicinski P、G1 cyclins link proliferation, pluripotency and differentiation of embryonic stem cells、*Nature Cell Biology*、査読有、No.19(3)、2017、pp177-188、DOI: 10.1038/ncb3474
- 10) Fukushima H, Shimizu K, Watahiki A, Hoshikawa S, Kosho T, Oba D, Sakano S, Arakaki M, Yamada A, Nagashima K, Okabe K, Fukumoto S, Jimi E, Bigas A, Nakayama KI, Nakayama K, Aoki Y, Wei W, Inuzuka H、NOTCH2 Hajdu-Cheney Mutations Escape SCFFBW7-Dependent Proteolysis to Promote Osteoporosis、*Molecular Cell*、査読有、No.68、2017、pp645-658、DOI: 10.1016/j.molcel.2017.10.018
- 11) Wan L, Chen M, Cao J, Dai X, Yin Q, Zhang J, Song SJ, Lu Y, Liu J, Inuzuka H, Katon JM, Berry K, Fung J, Ng C, Liu P, Song MS, Xue L, Bronson RT, Kirschner MW, Cui R, Pandolfi PP, Wei W、The APC/C E3 Ligase Complex Activator FZR1 Restricts BRAF Oncogenic Function、*Cancer Discovery*、査読有、No.7(4)、2017、pp424-441、DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0647
- 12) Shimizu K, Fukushima H, Ogura K, Lien EC, Nihira NT, Zhang J, North BJ, Guo A, Nagashima K, Nakagawa T, Hoshikawa S, Watahiki A, Okabe K, Yamada A, Toker A, Asara JM, Fukumoto S, Nakayama KI, Nakayama K, Inuzuka H, Wei W、The SCF β -TRCP E3 ubiquitin ligase complex targets Lipin1 for ubiquitination and degradation to promote hepatic lipogenesis、*Science Signaling*、査読有、2017、DOI: 10.1126/scisignal.aah4117
- 13) Nagashima K, Fukushima H, Shimizu K, Yamada A, Hidaka M, Hasumi H, Ikebe T, Fukumoto S, Okabe K, Inuzuka H、Nutrient-induced FNIP degradation by SCF β -TRCP regulates FLCN complex localization and promotes renal cancer progression、*Oncotarget*、査読有、No. 8(6)、2017、

- pp9947-9960、DOI: 10.18632/oncotarget.14221
- 14) Hong X, Liu W, Song R, Shah JJ, Feng X, Tsang CK, Morgan KM, Bunting SF, Inuzuka H, Zheng XF, Shen Z, Sabaawy HE, Liu L, Pine SR, SOX9 is targeted for proteasomal degradation by the E3 ligase FBW7 in response to DNA damage, *Nucleic Acids Research*, 査読有、No.44(18)、2016、pp8855-8869、DOI: 10.1093/nar/gkw748
 - 15) Guo J, Chakraborty AA, Liu P, Gan W, Zheng X, Inuzuka H, Wang B, Zhang J, Zhang L, Yuan M, Novak J, Cheng JQ, Toker A, Signoretti S, Zhang Q, Asara JM, Kaelin WG Jr, Wei W、*Science*、査読有、No.353(6302)、2016、pp929-32、DOI: 10.1126/science.aad5755
 - 16) Li X, Dai X, Wan L, Inuzuka H, Sun L, North BJ, Smurf1 regulation of DAB2IP controls cell proliferation and migration, *Oncotarget*、査読有、No. 7(18)、2016、pp26057-26069、DOI: 10.18632/oncotarget.8424

〔学会発表〕(計 13 件)

- 1) 清水 康平、千葉 満生、犬塚 博之、福本 敏、アセチル化による抗アポトーシスタンパク質 MCL1 の安定化機構とその制御方法の検討、第 41 回日本分子生物学会年会、2018
- 2) 綿引 麻美、清水 康平、瓜生 英尚、星川 聖良、福本 敏、江草 宏、犬塚 博之、Lipin 2 タンパク質分解を介したマクロファージ活性化調節機構の解析、第 41 回 日本分子生物学会年会、2018
- 3) 犬塚 博之、Notch2 変異を介した骨粗鬆症病態の分子機構解明、第 41 回日本分子生物学会年会ワークショップ、2018
- 4) 清水 康平、千葉 満生、犬塚 博之、福本 敏、ユビキチン-プロテアソーム経路の破綻による MCL1 安定化機構とその制御方法の検討、第 60 回歯科基礎医学会学術大会、2018
- 5) 星川 聖良、千葉 満生、綿引 麻美、清水 康平、犬塚 博之、福本 敏 プロテアソーム阻害剤を用いた効率的骨芽細胞分化誘導法の検討 第 60 回歯科基礎医学会学術大会、2018
- 6) 清水 康平、犬塚 博之、福島 秀文、福本 敏、抗アポトーシスタンパク質 MCL1 の安定性制御におけるアセチル化の役割、第 59 回歯科基礎医学会学術大会、2017
- 7) Inuzuka H、Multiple functions of SCF E3 ligase and its implications as a therapeutic target、第 15 回 松山国際学術シンポジウム、2017
- 8) 犬塚 博之、タンパク質分解から考える骨及び脂質代謝制御、第 55 回日本小児歯科学会大会、2017
- 9) Hoshikawa S、Watahiki A、Fukushima H、Fukumoto S、Inuzuka H、Analysis of proteasome-dependent lipogenic pathway in hepatocytes、The 2017 Japan-NIH Joint Symposium on Advances in Biomedical Research and Disease、2017
- 10) 犬塚 博之、脂質代謝における SCF ユビキチンリガーゼの機能と役割、第 70 回 東北大学歯学会、2016
- 11) 綿引 麻美、星川 聖良、犬塚 博之、江草 宏、福島 秀文、BHD 症候群関連タンパク質 FNIP2 のプロテアソーム依存的な量的調節機構の解析、第 39 回 日本分子生物学会年会、2016
- 12) 星川 聖良、綿引 麻美、福島 秀文、福本 敏、犬塚 博之、ユビキチン-プロテアソーム系を介した肝細胞脂質合成経路の解析、第 39 回 日本分子生物学会年会、2016
- 13) 犬塚 博之、福島 秀文、清水 康平、Wenyi Wei、福本 敏、脂質代謝における SCF β -TRCP ユビキチンリガーゼ複合体の役割、第 58 回 歯科基礎医学会学術大会、2016

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：福本 敏
ローマ字氏名：(FUKUMOTO, Satoshi)
所属研究機関名：東北大学
部局名：大学院歯学研究科
職名：教授
研究者番号(8桁)：30264253

研究分担者氏名：齋藤 正寛
ローマ字氏名：(SAITO, Masahiro)
所属研究機関名：東北大学
部局名：大学院歯学研究科
職名：教授
研究者番号(8桁)：40215562

研究分担者氏名：竹田 浩之
ローマ字氏名：(TAKEDA, Hiroyuki)
所属研究機関名：愛媛大学
部局名：プロテオサイエンスセンター
職名：准教授
研究者番号(8桁)：40609393

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。