

令和元年6月4日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07740

研究課題名(和文)メタボリック症候群発症時のコレステロール逆転送系低下機序の解明と食環境による制御

研究課題名(英文)HDL metabolism and food in metabolic syndrome

研究代表者

永尾 晃治 (Koji, Nagao)

佐賀大学・農学部・教授

研究者番号：10336109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：トランス型脂肪酸異性体、飽和脂肪酸、動物性および植物性タンパク質等を用い、in vitroおよびin vivo実験系によるメタボリック症候群発症時のコレステロール逆転送系低下機序の解明と食環境による制御を試みた。その結果、一般に指摘されているトランス型脂肪酸の悪玉性は見出されなかった。一方で肝臓におけるステロールトランスポーターの変動がHDL代謝異常と関与していることが示唆され、植物性タンパク質により発現制御することで改善が期待出来ることも見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

欧米における疫学調査から、HDL代謝を低下させる動脈硬化性疾患の危険因子として幾つかの脂質成分が挙げられているが、作用機序と構造との関係に関する詳細は不明である。本研究では、俗に言うトランス型脂肪酸がHDL代謝に及ぼす影響を細胞系および生体系で検討を行ったが、その悪玉性は証明されなかった。一方で、植物性タンパク質が肝臓のステロールトランスポーターの発現を変動させることで生体でのHDLコレステロールの比率を向上させることを見出した。以上のことから、今後の病態発症機序解明と代謝改善機能性食事因子の開発におけるターゲットとなる疾患遺伝子を強く示唆することが出来た。

研究成果の概要(英文)：The metabolic syndrome is known to increase cardiovascular morbidity and mortality. Because precise mechanism of lowered HDL-cholesterol in metabolic syndrome is still unknown, we examined the effects of several food factors on HDL metabolism in metabolic syndrome models. Our study demonstrated that number and position of trans-structure in fatty acids affect apoB secretion in vitro, but not LDL-C level in vivo. On the other hand, our results suggested that plant protein alleviate LDL-C/HDL-C ratio through an increase of hepatic sterol transporter expression in obese rats. Therefore, regulation of hepatic sterol transporter is worth considerable attention with respect to the alleviation of lowered HDL metabolism in metabolic syndrome by food components.

研究分野：食品栄養化学

キーワード：食環境 HDL代謝 疾患遺伝子

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

### 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化とその合併症は日本を含め先進工業国における死亡原因の約半数を占め、人口の高齢化が急速に加速する中において、今や医学領域のみならず社会経済的にも最も重要な課題となっている。動脈硬化の原因ならびに発生病理については、これまで血中の低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-CHOL) の上昇による発症危険度の増加が最も重要視されており、その血中濃度を低下させる薬剤:スタチンの投与が主要な治療法となっている。しかしながら、スタチンによる LDL-CHOL 管理のみでは心血管疾患リスクの3割減程度しか効果が期待できず、残存リスクの要因解明と対応策の確立が期待されている。一方、血中の高密度リポタンパク質コレステロール (HDL-CHOL) あるいはその主要なアポリポタンパク質であるアポ AI 濃度は、虚血性心疾患発症頻度との間に強い負の相関があり、HDL が生体内で抗動脈硬化作用を有していることが広く認められているが、HDL 代謝に関する研究は LDL 代謝の研究に比べて大きく後れをとってきた。近年増加している肥満を中心病態として虚血性心疾患の危険因子が集積するメタボリックシンドロームにおいても、その診断基準として、LDL-CHOL の高値ではなく、HDL-CHOL の低値が重要視されているにも関わらず、HDL-CHOL 管理が期待できる治療法は未だ確立されていない。

HDL の抗動脈硬化作用は、末梢細胞から余剰なコレステロールを引き抜き (cholesterol efflux) 肝臓に転送する「コレステロール逆転送系」に由来すると考えられ、cholesterol efflux における細胞側の責任分子については、HDL 欠損疾患である Tangier 病患者の遺伝子解析から ABCA1 (ATP binding cassette transporter A1) と呼ばれる膜タンパク質が同定されている。数年来、ABCA1 の転写調節因子 Liver X receptor (LXR) をターゲットとした活性化薬剤の活用が試みられてきたが、LXR が脂肪酸合成系遺伝子の発現も正に制御しているために、ABCA1 発現亢進と脂肪酸合成亢進が同時に起きてしまうというジレンマから実用化が難航している現状がある。申請者は、細胞からアポ AI への遊離コレステロール及びリン脂質の移行には、カベオラと呼ばれる細胞膜陥没構造 (コレステロールが集積しているドメイン) の主要蛋白 Caveolin と ABCA1 の協調的作用が重要であることを以前報告しており (Biochemistry, 39, 14113, 2000; Biochemistry, 41, 4929, 2002) またメタボリックシンドローム発症時 (LXR 活性化時) の HDL-CHOL 低下現象との不整合性からも、HDL 代謝の調節には ABCA1 単独ではなく複数因子の関与が考えられる。

特に肥満を中心病態とするメタボリックシンドロームにおいては、脂肪組織と HDL 新生を行う臓器・細胞との相互作用を詳細に検討する必要がある。脂肪組織は、単に受動的な臓器ではなく、ホルモン様物質等を産生することで能動的に他臓器・細胞の機能や代謝系に影響を与え得ることから、メタボリックシンドローム発症時の脂肪組織由来分泌分子の発現変動の解析とそれらが HDL 代謝に及ぼす影響の評価が不可欠である。

### 2. 研究の目的

本研究ではメタボリックシンドローム発症時のコレステロール逆転送系低下機序の解明と食環境による原因遺伝子の発現・機能制御を介した HDL-CHOL 管理法の確立を目的とする。

具体的には、まず HDL-CHOL を低下させる副作用が報告されている成分をトリガーとして、実験動物に投与して、脂肪組織 (メタボリックシンドローム発症時のシグナル発信臓器) および肝臓 (未成熟 HDL の主要な産生臓器) 内に発現するコレステロール逆転送系低下に関連する遺伝子を臓器横断的・網羅的検索する事で疾患遺伝子を同定し、さらに疾患遺伝子の発現と食環境との相互作用について明らかにすることを目的とする。最終的には、遺伝的要因という先天的な因子に対して食環境という後天的な因子が、どの様にその相互作用のバランスを保つことで、病態発症の予防、ひいては人の健康を構築しうるのかを明らかにしたい。

### 3. 研究の方法

培養細胞 (肝臓細胞モデル HepG2) を用いた個体からスケールダウンした形式やラットやマウスとは異なりヒトと同じ LDL 動物であるハムスターを用いた in vivo 評価系における HDL 代謝増悪食事成分のスクリーニングを行う。また、メタボリックシンドロームモデル動物 (OLETF ラット、db/db マウスなど) におけるリポタンパク質代謝異常発症時の遺伝子発現プロファイリングや食環境の相互作用の解析などにより効率的に有用な知見を得る。

### 4. 研究成果

(1) 様々な疫学調査により、HDL-C を低下させる事が示唆されているエライジン酸とその類縁構造物である炭素数 18 モノエン脂肪酸位置異性体 13 種 (図 1) について、ヒト肝臓由来 HepG2 細胞におけるリポタンパク質代謝に及ぼす影響を in vitro で評価した。

その結果、善玉コレステロールの指標である ApolipoproteinA1 について、HepG2 細胞からの分泌におよぼす影響を

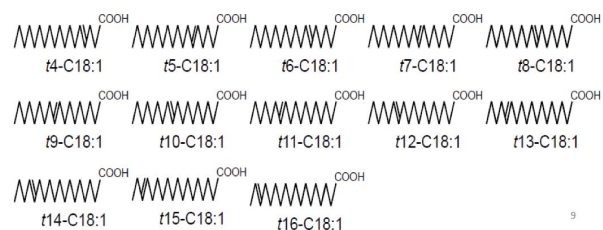


図1 炭素数18モノエン脂肪酸位置異性体

評価したところオレイン酸(9c-18:1)および、いずれのトランス脂肪酸にも顕著な作用は認められなかった(図2)。

次に、悪玉コレステロールの指標である ApolipoproteinB について、HepG2 細胞からの分泌におよぼす影響を評価したところ Con 群や 9c 型のオレイン酸と比べ、5 t 型異性体のみに顕著な増加が認められ、その悪玉性が示唆された(図3)。さらに、不飽和脂肪酸を含有する食品の高温加熱で生じる可能性があるトランス型ジエン・トリエン脂肪酸が ApolipoproteinB の分泌に及ぼす影響についても評価を行ったところ、9t、9t12t、9t12t15t の比較において、トランス構造の増加に伴う ApolipoproteinB の分泌亢進増強作用が示唆された(図4)。

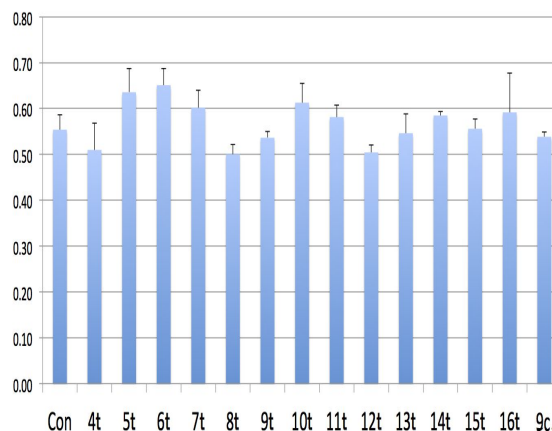


図2 ApoA1 secretion (µg/mg protein)

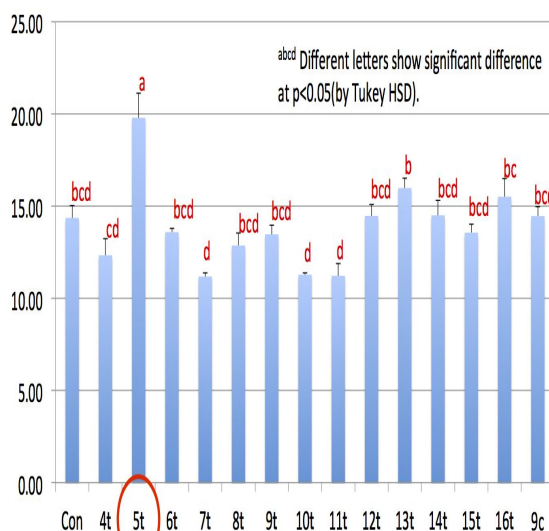


図3 ApoB secretion (µg/mg protein)

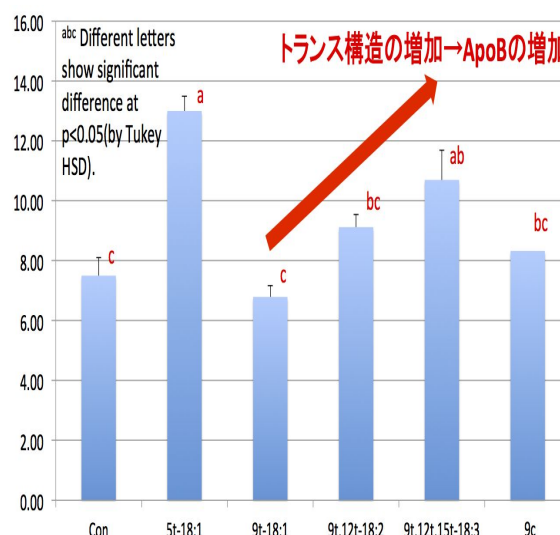


図4 ApoB secretion (µg/mg protein)

(2) in vitro 実験系にて見出された HDL 代謝増悪因子候補を大量合成してハムスターを用いた in vivo でのコレステロール逆転送系への影響を検討した。酵素法及びゲル濾過 HPLC 法でリポタンパク質画分を最大 20 分画に分けて検討を行ったが、どのトランス型異性体にも悪玉性は確認されず、ジトランス型でむしろ改善する作用が認められた(表1)。

また米国において「sn-2 位にミリスチン酸が結合した脂質を含む食用油に LDL-C/HDL-C 比を改善する効果」が特許申請されており、ミリスチン酸を高含有する植物油がリポタンパク質コレステロール濃度に及ぼす影響について、ハムスターを用いて他の飽和脂肪酸高含有食用油と比較検討したが、本実験に於いてもハムスターのリポタンパク質コレステロール代謝を変化させることが出来なかった。以上の結果より、単独の食事因子によるコレステロール逆転送系変動への寄与度はそれほど強くなく、候補成分同士の相乗効果や共存する他の食事成分の影響が大きい可能性が考えられた。

表1 トランス酸異性体がハムスターのリポタンパク質コレステロール濃度に及ぼす影響

	OA	5t	EA	VA	TT
Total-C / HDL-C	1.79±0.07	1.76±0.08	1.75±0.03	1.62±0.07	1.74±0.10
HDL-C / Total-C	0.560±0.020	0.574±0.026	0.572±0.010	0.621±0.029	0.583±0.033
non HDL-C / HDL-C	0.794±0.068	0.756±0.081	0.750±0.032	0.624±0.074	0.738±0.096
HDL-C / non HDL-C	1.29±0.10	1.39±0.15	1.34±0.05	1.71±0.24	1.46±0.20

(3) 続いて、メタボリックシンドローム発症時のコレステロール逆転送系低下誘引や HDL 比を改善する候補食事因子を脂質からタンパク質に変更し、評価系を食欲抑制ホルモン作用不全に



よる肥満・糖尿病発症モデルである dbdb マウス及び OLETF ラットで行うことにした。その中で、植物由来タンパク質が肥満モデル OLETF ラットにおいて、血中総コレステロール低下作用を示すと同時に、リポタンパク質組成における HDL-コレステロールの割合の顕著な上昇が認められた。また血中微量ステロイド濃度を指標として吸収・合成活性を評価したところ、吸収活性及び合成活性の有意な低下が認められた。その際の肝臓に於いて、コレステロールプール量およびコレステロール代謝関連遺伝子発現への影響を検討したところ、コレステロール排出に関与する ATP-バインディングカセット G8 の発現が 31%上昇していた。現在、そのタンパク質発現量の検討を進めている。

さらに、活性アミノ酸配列本体の探索のために酵素消化した植物タンパク質を調整し、肥満モデル dbdb マウスで評価したところ、血中コレステロール低下作用が認められたことから、更なる分画と in vitro および in vivo での活性画分の絞り込みを進めて居る。その他、動物性タンパク質についても OLETF ラットおよび dbdb マウスでの評価を行ったが、トリグリセリド低下作用は示すもののコレステロール代謝への影響が顕著でなかったため、候補食事因子としては除外した。以上の結果から、植物由来タンパク質中のペプチド分画と ABC トランスポーターとの相互作用を検証していくことで、病態発症機序解明と代謝改善機能性食事因子の開発が同時に進展することが期待された。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

N. Gotoh, K. Yoshinaga, S. Kagino, Y. Katoh, Y. Mizuno, F. Beppu, T. Nagai, H. Mizobe, A. Yoshida, K. Nagao: Evaluating the content and distribution of trans fatty acid isomers in foods consumed in Japan. *J. Oleo Sci.*, 査読有, 68, 193-202, 2019. DOI:10.5650/ios.ess18214.

N. Gotoh, K. Nagao, H. Ishida, K. Nakamitsu, K. Yoshinaga, T. Nagai, F. Beppu, H. Watanabe, T. Yanagita: Metabolism of natural highly unsaturated fatty acid, tetracosahexaenoic acid (24:6n-3), in C57BL/KsJ-db/db mice. *J. Oleo Sci.*, 査読有, 67, 1597-1607, 2018. DOI:10.5650/ios.ess18167.

N. Gotoh, S. Kagino, K. Yoshinaga, H. Mizobe, T. Nagai, A. Yoshida, F. Beppu, K. Nagao: Study on the trans fatty acid formation in oil by heating using model compounds. *J. Oleo Sci.*, 査読有, 67, 273-281, 2017. DOI:10.5650/ios.ess17209.

K. Nagao, K. Yoshinaga, T. Nagai, H. Mizobe, A. Yoshida, F. Beppu, N. Gotoh: Comparison of the effect on apolipoprotein A1 and B secretion among trans fatty acid isomers using HepG2 cell. *J. Oleo Sci.*, 査読有, 66, 1175-1181, 2017. DOI:10.5650/ios.ess17074.

K. Nagao, T. Jinnouchi, S. Kai, T. Yanagita: Pterostilbene, a dimethylated analog of resveratrol, promotes energy metabolism in obese rats. *J. Nutr. Biochem.*, 査読有, 43, 151-155, 2017. DOI:10.1016/j.jnutbio.2017.02.009.

表2 Effects of plant proteins on lipoprotein cholesterol levels in LETO and OLETF rats

Peak	Major class	Subclass	NO	CO	SP	MB
mg/dL						
F1	CM-C		0.201±0.009	0.723±0.180 <sup>ab</sup>	0.310±0.036 <sup>ab</sup>	0.275±0.067 <sup>b</sup>
F2			0.0828±0.0072	0.470±0.112 <sup>ab</sup>	0.153±0.022 <sup>b</sup>	0.142±0.031 <sup>b</sup>
F3	VLDL-C	large	0.188±0.017	1.74±0.35 <sup>ab</sup>	0.556±0.106 <sup>b</sup>	0.506±0.095 <sup>b</sup>
F4			0.432±0.050	3.94±0.61 <sup>ab</sup>	1.74±0.32 <sup>b</sup>	1.58±0.22 <sup>b</sup>
F5			1.10±0.13	4.87±0.50 <sup>ab</sup>	3.24±0.54 <sup>ab</sup>	2.84±0.29 <sup>b</sup>
F6		medium	1.13±0.12	3.18±0.29 <sup>ab</sup>	2.14±0.30 <sup>b</sup>	1.73±0.16 <sup>b</sup>
F7		small	0.403±0.118	1.00±0.10 <sup>ab</sup>	0.558±0.048 <sup>b</sup>	0.446±0.066 <sup>b</sup>
F8	LDL-C	large	1.50±0.39	2.15±0.11 <sup>a</sup>	1.35±0.08 <sup>b</sup>	1.05±0.11 <sup>b</sup>
F9		medium	1.70±0.52	0.952±0.156	0.780±0.049	0.802±0.178
F10		small	4.29±0.41	4.09±0.20 <sup>a</sup>	2.86±0.17 <sup>b</sup>	2.27±0.20 <sup>b</sup>
F11		very small	0.129±0.053	0.258±0.057	0.188±0.075	0.0860±0.0423
F12			13.6±0.8	19.1±1.2 <sup>ab</sup>	13.5±1.0 <sup>b</sup>	9.44±0.84 <sup>c</sup>
F13			9.76±0.32	14.2±0.5 <sup>ab</sup>	10.9±0.7 <sup>b</sup>	8.18±0.60 <sup>c</sup>
F14	HDL-C	very large	13.1±0.4	19.0±0.6 <sup>ab</sup>	14.9±0.9 <sup>b</sup>	11.8±0.8 <sup>c</sup>
F15			13.5±0.9	17.4±0.1 <sup>ab</sup>	15.1±0.7 <sup>b</sup>	12.7±0.5 <sup>c</sup>
F16		large	23.1±1.0	29.5±0.5 <sup>ab</sup>	27.1±0.6 <sup>b</sup>	23.5±0.5 <sup>c</sup>
F17		medium	6.77±0.13	9.01±0.28 <sup>a</sup>	8.40±0.14	7.82±0.54
F18		small	2.25±0.06	2.91±0.05 <sup>ab</sup>	2.68±0.05 <sup>ab</sup>	2.51±0.12 <sup>b</sup>
F19		very small	0.552±0.044	0.611±0.026	0.535±0.012	0.559±0.050
F20			0.697±0.011	0.882±0.018 <sup>ab</sup>	0.745±0.024 <sup>b</sup>	0.692±0.017 <sup>b</sup>

\* P < 0.05 (NO vs CO)

<sup>abc</sup> Different letters show significant difference at P < 0.05 (among 3 groups : CO, SP, MB).

表3 Effects of plant proteins on cholesterol-metabolism related gene levels in LETO and OLETF rats

HMG-CoA reductase	95.9±15.3	100±24	145±32	106±11
ACAT1	102±28	100±18	97.8±19.1	85.0±16.8
LDL-r	85.2±15.7	100±11	117±21	82.5±8.0
CYP7A1	4.40±1.30	100±37	182±65	104±24
SREBP2	103±6	100±12	103±20	109±10
ABCA1	68.9±5.6	100±12	108±9	78.9±4.0
ABCG5	298±89	100±18	141±56	80.6±20.2
ABCG8	247±48	100±14 <sup>*</sup>	134±49	131±14
FXR	37.2±7.3	100±20 <sup>*</sup>	122±22	78.9±9.0

Each value represents mean ± SE.

\* P < 0.05 (NO vs CO)

<sup>ab</sup> Different letters show significant difference at P < 0.05 (among 3 groups : CO, SP, MB).

K. Nagao, A. Matsumoto, S. Kai, T. Kayashima, T. Yanagita: Soy protein isolate suppresses lipodystrophy-induced hepatic lipid accumulation in model mice. *J. Oleo Sci.*, 査読有,66, 161-169, 2017. DOI:10.5650/ios.ess16145.

H. Hamajima, H. Matsunaga, A. Fujikawa, T. Sato, S. Mitsutake, T. Yanagita, K. Nagao, J. Nakayama, H. Kitagaki: Japanese Traditional Dietary Fungus Koji *Aspergillus Oryzae* Functions as a Prebiotic for *Blautia Coccoides* through Glycosylceramide. SpringerPlus, 査読有,5, 1321(1-10), 2016. DOI:10.1186/s40064-016-2950-6.

B. Shirouchi, K. Nagao, M. Umegatani, A. Shiraishi, Y. Morita, S. Kai, T. Yanagita, A. Ogawa, Y. Kadooka, M. Sato: Probiotic *Lactobacillus gasseri* SBT2055 improves glucose tolerance and reduces body weight gain in rats by stimulating energy expenditure. *Brit. J. Nutr.*, 査読有, 116,451-458, 2016. DOI:10.1017/S0007114516002245.

[学会発表](計17件)

N. Inoue, K. Nagao, T. Yanagita: Inositol improves obesity-induced fatty liver and hepatic injury in obese, diabetic db/db mice. The 3rd International Symposium on Rice Science in Global Health, 2018.11.30, Kyoto (Japan).

王天昱、城内文吾、武山藍、中山恵理子、永尾晃治、佐藤匡央: コレステロンのリンパ輸送動態. 平成30年度日本食品科学工学会西日本支部大会、2018.11.17、福岡市.

萱島知子、西岡果那、永尾晃治、柴田紗知、松原主典: 拘束ストレス負荷マウスに対するローズマリー (*Rosmarinus officinalis* L.) 葉抽出物の効果. 日本家政学会九州支部第64回大会、2018.10.6、宮崎市.

K. Nagao, K. Yoshinaga, T. Nagai, H. Mizobe, A. Yoshida, F. Beppu, N. Gotoh: Comparison of the effect of trans fatty acid isomers on apolipoprotein A1 and B secretion in HepG2 cells. The Asian conference on Oleo Science 2017, 2017.9.17, Tokyo (Japan).

K. Yoshinaga, Y. Katoh, H. Mizobe, T. Nagai, A. Yoshida, F. Beppu, K. Nagao, N. Gotoh: Distribution of trans fatty acid isomers in processed foods provided in Japanese market. The Asian conference on Oleo Science 2017, 2017.9.17, Tokyo (Japan).

N. Gotoh, S. Kagiono, K. Yoshinaga, H. Mizobe, T. Nagai, A. Yoshida, F. Beppu, K. Nagao: Distribution of trans fatty acid isomers in meat, butter, and milk derived from ruminants provided in Japanese market. The Asian conference on Oleo Science 2017, 2017.9.17, Tokyo (Japan).

N. Gotoh, S. Kagiono, K. Yoshinaga, H. Mizobe, T. Nagai, A. Yoshida, F. Beppu, K. Nagao: Characteristic of trans fatty acid isomers in liquid oil formed by heating. The Asian conference on Oleo Science 2017, 2017.9.17, Tokyo (Japan).

永尾晃治: メタボ予防における佐賀県産品の可能性. 「さがフード&コスメラボ」キックオフセミナー、2017.7.31、佐賀市.

Nong Quynh Nga、萱島知子、畑中悠花、柴田紗知、上野純弥、永尾晃治、松原主典: 拘束ストレス負荷マウスに対するカルノシン酸の抗ストレス効果の検討. 日本家政学会第69回大会、2017.5.28、奈良市.

永尾晃治: 脂質構造異性体とメタボリックシンドローム. 第71回日本栄養・食糧学会大会シンポジウム、2017.5.20、沖縄市.

酒谷真以、Ferdouse Jannatul、阪本真由美、浜島弘史、柘植圭介、西向めぐみ、柳田晃良、永尾晃治、光武進、北垣浩志: 日本の伝統発酵食品に含まれている麴グルコシルセラミド含量の解析. 日本農芸化学会2017年度大会、2017.3.19、京都府.

永尾晃治: コレステロール代謝と食事. 第118回食用加工油脂技術研究会、2016.9.30、大阪市.

藤川彩美、佐藤友哉、浜島弘史、柳田晃良、光武進、永尾晃治、中山二郎、北垣浩志: 麴グルコシルセラミドの腸内細菌叢への影響. 第68回日本生物工学会大会、2016.9.16、富山市.

永尾晃治: 食品の機能性について-佐賀の特産食材を中心に-. 「食道楽さが」研修会、2016.6.11、佐賀市.

畑中悠花、萱島知子、筆本悠希、柴田紗知、上野純弥、永尾晃治、松原主典: ローズマリー成分カルノシン酸の摂取が拘束ストレス負荷マウスに与える影響. 日本家政学会第68回全国大会、2016.5.28、名古屋市.

城内文吾、梅ヶ谷南、白石彩、森田有紀子、甲斐俊一、永尾晃治、柳田晃良、小川哲弘、門岡幸男、佐藤匡央: *Lactobacillus gasseri* SBT2055 摂取がラットのエネルギー代謝および糖代謝に及ぼす影響. 第70回日本栄養・食糧学会大会、2016.5.14、西宮市.

別府史章、浅沼公晴、河村芳徳、永井利治、吉永和明、溝部帆洋、小島浩一、笠井聡、永尾晃治、久保篤史、神田穰太、後藤直宏: トランス脂肪酸異性体間の組織への蓄積と異化効率の違い. 第70回日本栄養・食糧学会大会、2016.5.13、西宮市.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：腸内 Blautia coccooides 増殖刺激剤、不安改善剤および腸炎治療剤

発明者：北垣浩志、永尾晃治、中山二郎

権利者：佐賀大学、九州大学

種類：特許

番号：特開 2017-147960

出願年：2017.8.31

国内外の別：国内

取得状況(計2件)

名称：肝機能障害予防改善剤

発明者：柳田晃良、永尾晃治、小島浩一、永井利治

権利者：佐賀大学、月島食品工業株式会社

種類：特許

番号：第 6153241 号

取得年：2017.6.9

国内外の別：国内

名称：肥満及び/又はメタボリックシンドロームの予防又は治療のための医薬組成物

発明者：柳田晃良、永尾晃治、杉山大二郎、埴雅明、真船英一

権利者：佐賀大学、第一三共ヘルスケア株式会社

種類：特許

番号：第 6103971 号

取得年：2017.3.10

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

## 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。