

令和元年6月13日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08253

研究課題名(和文)チロシンリン酸化シグナルによる染色体分配制御機構の解明

研究課題名(英文)Regulation of cell division by tyrosine phosphorylation signaling

研究代表者

中山 祐治(Nakayama, Yuji)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：10280918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：チロシンリン酸化シグナルによる細胞分裂制御機構の解明を目指し、細胞周期を同調した細胞のプロテオミクス解析、及び細胞分裂進行を指標とした阻害剤ライブラリーのスクリーニングを行うとともに、チロシンリン酸化シグナルの異常亢進のモデルとしてv-Srcが細胞分裂に及ぼす影響を調べた。その結果、細胞質分裂特異的な中間径フィラメントのリン酸化の可能性を見だし、また、受容体型チロシンキナーゼの阻害剤が細胞分裂を遅延させることを明らかにした。さらに、チロシンリン酸化の亢進は、早期の細胞分裂終了を誘導し、さらに、DNA含量が増加した細胞の細胞周期停止を解除し、細胞分裂異常を引き起こすことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞分裂制御関連タンパク質の機能異常は染色体不安定性を介して細胞のがん化に関与するため、新規制御機構の解明は、新たな細胞がん化機構の発見につながる。また、細胞分裂制御に関わるタンパク質は、抗がん剤を開発するための標的分子となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the mechanisms underlying tyrosine phosphorylation-mediated regulation of cell division, we performed proteomic analysis using cell cycle-synchronized cells, screening of inhibitors affecting progression of cell division, and analysis of effect of v-Src on cell division, as a model of abnormally activated tyrosine phosphorylation signal. We found possible tyrosine phosphorylation of intermediate filament in cytokinesis, and delay in M-phase progression by inhibitors against receptor-type tyrosine kinases. Furthermore, v-Src causes premature mitotic exit and restart of cell cycle of cells having increased DNA content, leading to abnormal cell division in the following cell cycle.

研究分野：細胞生物学

キーワード：細胞分裂 チロシンリン酸化 v-Src 細胞周期

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

1. 研究開始当初の背景

細胞分裂は、複製された DNA を二つの娘細胞へ均等に分配する過程であり、染色体の分配と細胞質の分離により構成される。染色体の分配は細胞分裂後期・終期に行われ、Aurora キナーゼ、Plk1、Mklp1 など多くのタンパク質により制御される。細胞分裂異常による染色体の不均等分配は、染色体不安定性を介した細胞の癌化、癌の悪性化に寄与するため、細胞分裂は精巧に制御される。

我々はこれまで、Src 型チロシンキナーゼが紡錘体形成や細胞質分裂などの制御に関与することを報告してきた。また、この Src シグナルの異常が細胞質分裂を阻害し、多核細胞を形成させることを報告した。さらに、細胞分裂後期に形成される収縮溝の付近にチロシンリン酸化タンパク質が蓄積することや、v-Src 発現細胞を用いたプロテオミクス解析により、分裂期特異的なチロシンリン酸化修飾を既に見出してきた。これらの結果は、Cdk1、Plk1、Aurora A、Aurora B などのキナーゼによるタンパク質のセリン/スレオニン残基のリン酸化修飾のみならず、細胞分裂制御におけるチロシンリン酸化修飾の重要性を示している。しかしながら、チロシンリン酸化による細胞分裂制御については良くわかっていない。

染色体が整列する中期紡錘体や、細胞質分裂において形成されるミッドボディーのプロテオミクス解析が多数報告されているのに対し、染色体分配がおこる細胞分裂後期のプロテオミクス解析の報告は少ない。分裂後期は非常に短時間で次の段階(終期)に進むため、細胞をこの段階にそろえる(同調する)ことの困難さが解析が進んでいない原因である。しかし我々は、後期への効率良い同調方法を用い、スモールスケールではあるが、細胞分裂後期のプロテオミクス解析に成功し、細胞分裂の後期、終期に特異的なペプチドのリン酸化 (pSer, pThr) を多数見出した。この中には、細胞分裂後期、終期の制御に関与する、既知のリン酸化修飾も含まれており、この解析が妥当であることが示唆された。さらには、数は少ないが後期特異的なチロシンリン酸化ペプチドも検出できた。よって、細胞分裂後期にチロシンリン酸化されるタンパク質を見出すことが可能になった。

2. 研究の目的

本研究では、チロシンリン酸化シグナルに着目して細胞分裂後期のリン酸化シグナルを解析し、染色体分配制御におけるリン酸化シグナルの関与を解明する。さらに、その制御異常が細胞分裂に与える影響を調べる。そのため本研究では、(1)細胞周期を同調した細胞を用い、プロテオミクス解析によりタンパク質リン酸化の網羅的解析を行う。その中から幾つかの分子に着目し、制御機構の解明を目指す。また、(2)阻害剤ライブラリーから細胞分裂進行に影響を与える化合物をスクリーニングし、(1)の分子の選定における参考とする。さらに、(3)チロシンリン酸化シグナルの異常亢進が細胞分裂に与える影響の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1)細胞周期特異的なタンパク質リン酸化の解析:

HeLa S3 細胞に、Eg5 阻害剤である S-trityl-L-Cysteine (STLC) を加えて培養し細胞分裂期に同調した後、Cdk1 阻害剤である RO-3306 を追加し細胞質分裂を誘導した。Cdk1 添加前、添加 30 分、及び 60 分後に細胞を集め、抗リン酸化チロシン抗体を用い、チロシンリン酸化に特化したリン酸化プロテオミクス解析を行った。得られた結果をもとに、中間径フィラメントに着目して細胞分裂への関与を解析した。

(2)細胞分裂進行を指標とした阻害剤ライブラリーのスクリーニング:

ブタ腎由来 LLC-PK1 細胞を用い、阻害剤ライブラリーが細胞分裂に対し与える影響をタイムラプスイメージングにより解析した。また、HeLa S3 細胞を用い、細胞周期に対する影響をフローサイトメトリーにより解析した。

(3)チロシンリン酸化の異常亢進が細胞分裂に与える影響:

HeLa S3 あるいはマウス線維芽細胞 NIH3T3 に由来し、v-Src の誘導発現が可能な細胞株 HeLa S3/v-Src 及び NIH3T3/v-Src を用いた。誘導発現は Doxycycline (Dox) の添加により行い、Dox の濃度は、実験内容に応じて 0.1 ng/ml ~ 0.1 µg/ml とした。

(4)その他:

()細胞分裂解析方法の開発

細胞分裂後期・終期に形成されるスピンドルミッドゾーンの染色方法として、細胞を固定する際の温度、固定溶液の組成、固定前の乾燥処理について検討した。

()他の細胞分裂制御機構

代表的な細胞ストレスとして温熱ストレスがある。細胞を Cdk1 阻害剤 RO-3306 で 20 時間処理して G2/M 期に同調し、最後の 30 分間に 42 °C の熱ストレスを与えた。その後、RO-3306 を除去して細胞分裂を開始し、細胞分裂進行への影響を観察した。

4. 研究成果

(1)細胞周期特異的なタンパク質リン酸化の解析：

HeLa S3細胞にEg5阻害剤であるS-Trityl-L-cysteine (STLC)を加えて培養すると、細胞は単極性の紡錘体を形成し、細胞分裂の進行を停止した。続いてR0-3306を追加すると、細胞質分裂が誘導され細胞分裂が終了した。この細胞周期同調方法により、擬似的な細胞分裂後期・終期の細胞を集められることがわかった。この細胞のライセート、及び可溶性画分を除去したライセートを調製しチロシンリン酸化プロテオミクス解析を行った結果、細胞分裂後期・終期においてチロシンリン酸化されるペプチドを複数見出し、細胞分裂後期・終期の制御にタンパク質のチロシンリン酸化が関与している可能性が示唆された。

これらのタンパク質の中で中間径フィラメントに着目し、実際に細胞分裂後期・終期においてチロシンリン酸化されるのか、内在性タンパク質の免疫沈降により解析したが、非特異的な結合などにより明確な結論には至らなかった。今後も継続して解析を続けていく。

(2)細胞分裂進行を指標とした阻害剤ライブラリーのスクリーニング：

LLC-Pk1細胞の細胞分裂、及びHeLa S3細胞の細胞周期に与える影響を指標に、阻害剤ライブラリーをスクリーニングした結果、受容体型チロシンキナーゼを標的とする複数の阻害剤により細胞分裂進行の遅延や細胞周期の変化が観察された。よって、これらの標的分子が細胞分裂制御に関与することが示唆された。そこで、これらの阻害剤の特異性を調べるため、さらに別の阻害剤を用いて細胞分裂に対する効果を検討した。その結果、標的が同じ異なる阻害剤において、同様な効果が観察された。さらに、siRNAによりノックダウンしたところ、2種の受容体型チロシンキナーゼにおいて、細胞分裂の阻害効果が観察された。よって、これらの阻害剤の標的分子が細胞分裂制御に関与することが示唆され、論文投稿に向け実験を継続している。また、別の受容体型チロシンキナーゼのノックダウンでは細胞分裂に対する効果は観察されず、この受容体型チロシンキナーゼの細胞分裂における役割を示すことはできなかったが、この分子を阻害する3つの阻害剤が染色体整列に影響し、紡錘体チェックポイントを活性化することで細胞分裂進行を遅延させることを見出し論文として報告した。

(3)チロシンリン酸化の異常亢進が細胞分裂に与える影響：

()チロシンリン酸化シグナルの異常亢進のモデルとして、v-Srcが細胞分裂や細胞周期に及ぼす影響を観察した。NIH3T3細胞にv-Srcを発現させると多極紡錘体などの細胞分裂の異常が観察された。v-Src発現により経時的に多核細胞が増加し、フローサイトメトリーで細胞周期を解析すると4N以上のDNA含量を示す細胞の割合が増加したことから、細胞質分裂異常により形成した多核細胞が多極性の紡錘体を形成することが推定された。通常、多核細胞の細胞周期はチェックポイントにより阻害される。そこで、v-Srcによるこのチェックポイントへの影響を調べた結果、v-Src発現によりYAPの核局在が誘導されること、すなわち、チェックポイントが解除されることを明らかとし、論文として報告した。

()HeLa S3/v-Src細胞にv-Srcを発現させフローサイトメトリーにより解析すると、4N DNAを含み、且つサイクリンB1レベルが低下している細胞集団が観察され、v-Srcによる細胞質分裂阻害が示唆された。タイムラプス解析では細胞質分裂阻害による細胞の二核化に加え、染色体分配を伴わない細胞分裂の早期の終了が観察された。Src阻害剤PP2により阻害されたことから、v-Srcのキナーゼ活性依存であった。v-Src発現細胞のリン酸化プロテオミクス解析によりCdk1(Tyr15)のリン酸化が推定され、*in vitro*キナーゼアッセイによりv-Srcが直接Cdk1をリン酸化することを明らかにした。また、Cdk1の基質であるEg5(T927)のリン酸化がv-Src発現により抑制され、Cdk1活性の低下が示唆された。細胞分裂期チェックポイントの活性化はタキソールなどの抗がん剤による細胞死誘導に必要である。v-Srcは、Eg5阻害剤であるSTLCやタキソールによる細胞分裂期での細胞周期停止を解除し、細胞の生存率を上昇させた。これらの結果から、v-Srcは、Cdk1(Tyr15)のリン酸化を介してCdk1活性を減弱させ、早期の分裂終了を誘導してDNA含量を増加させるとともに、細胞分裂期に作用点をもつ抗がん剤に対し抵抗性を誘導することを明らかとし、論文として報告した。

(4)その他：

()細胞分裂解析方法の開発

細胞分裂の後期、終期において形成されるスピンドルミッドゾーンは、収縮溝の決定において重要であり、その形成異常は細胞質分裂異常を誘導する。しかし、その構造上の問題から、ミッドゾーンの微小管を免疫蛍光染色により可視化することは困難だった。そこで、スピンドルミッドゾーンを可視化する新規の染色方法を開発した。

細胞を固定する際の固定液の組成、温度、前処理などを検討した結果、細胞を固定前に乾燥すると、チューブリンの染色強度が低下したが、細胞分裂の進行に影響を与えることなく、ミッドゾーン特異的にチューブリンの染色像が観察された。mCherry融合チューブリン発現細胞においても、同様にミッドゾーン特異的な形態が観察されたことから、ミッドゾーン特異的な染色は抗体の反応性の変化ではないことが示唆された。ミッドゾーンにおいて染色されるフィラメン

トがタキソールにより伸長し、ノコダゾールにより減少したことは、この染色方法において不安定な微小管が脱重合することを示唆している。さらに、この方法で Plk1 や Aurora B の阻害によるミッドゾーン形成への影響を検出できた。本研究において開発した方法は、細胞分裂期の後期、終期において形成されるミッドゾーン特異的な、新規で簡便な染色方法であり、ミッドゾーン形成に影響を与えるような阻害剤の評価や、ミッドゾーン形成制御の解析において重要な知見を与える有用な方法であると考えられ、論文として報告した。

() 他の細胞分裂制御機構

細胞は種々のストレスに晒されながらストレスに対応している。その代表的なストレスが熱ストレスであり、細胞分裂に与える影響を解析した。42 °C で 30 分間の温和な熱ストレスに細胞を晒すと、通常培養 3 時間後には細胞分裂期の割合が増加し、これらの細胞のほとんどが細胞分裂前期から中期までであり、染色体分配を開始している細胞はほとんど観察されなかった。この温和な熱ストレスによる後期開始の遅延が Mps1 阻害剤により解除されたことから、温和な熱ストレスは紡錘体チェックポイントを活性化することで細胞分裂を遅延させることが明らかになった。さらに、この紡錘体チェックポイントの活性化に熱ショックタンパク質である Hsp105 が関与すること、免疫沈降実験により Hsp105 は紡錘体チェックポイントに必須のタンパク質である Cdc20 と結合することを見出した。Hsp105 の欠損は、熱ストレスにより誘導される細胞分裂遅延を解除し、染色体分配異常を亢進した。また、Hsp105 の欠損は、パクリタキセルにより誘導される細胞分裂停止を解除し早期の細胞分裂終了を誘導して細胞死を抑制した。すなわち、Hsp105 の欠損はパクリタキセル感受性を低下させることを明らかとし、論文として報告した。

以上の結果から、チロシンリン酸化シグナルが細胞分裂制御に関わることを明らかにできた。特に、受容体型チロシンキナーゼの関与はこれまでに報告がない。本研究では、プロテオミクス解析と阻害剤スクリーニングの結果において共通する分子はなかったが、下流シグナルも含めて今後解析していく予定である。また、チロシンリン酸化の異常亢進モデルとして用いた v-Src 発現により、細胞分裂異常を誘導する機構と、その結果形成した多核細胞が多極紡錘体を形成する原因を明らかにすることができた。これらの機構は、v-Src による細胞の形質転換機構に寄与すると考えている。さらに、新規の細胞分裂制御機構として熱ショックタンパク質の関与を示し、また、細胞分裂後期・終期に形成されるスピンドルミッドゾーンの解析方法を開発し、今後の研究の進展に貢献できたと考えている。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

The tyrosine kinase v-Src causes mitotic slippage by phosphorylating an inhibitory tyrosine residue of Cdk1.

Horiuchi M, Kuga T, Saito Y, Nagano M, Adachi J, Tomonaga T, Yamaguchi N, Nakayama Y. *J. Biol. Chem.*, 293: 15524-15537, 2018. 査読有 doi: 10.1074/jbc.RA118.002784

Heat shock-induced mitotic arrest requires heat shock protein 105 for the activation of spindle assembly checkpoint.

Kakahana A, Oto Y, Saito Y, Nakayama Y. *FASEB J*, 33: 3936-3953, 2019. 査読有 doi.org/10.1096/fj.201801369R

Inhibitors of the VEGF receptor suppress HeLa S3 cell proliferation via misalignment of chromosomes and rotation of the mitotic spindle causing a delay in M-phase progression.

Okumura D, Hagino M, Yamagishi A, Kaibori Y, Munira S, Saito Y, Nakayama Y. *Int. J. Mol. Sci.*, 19: 4014, 2018. doi:10.3390/ijms19124014 査読有 doi:10.3390/ijms19124014

Air-drying of cells enables visualization of antiparallel microtubule overlaps in the spindle midzone.

Ifuji A, Kuga T, Nakayama Y. *MethodsX*, 5: 431-437, 2018. 査読有 doi.org/10.1016/j.mex.2018.04.011

v-Src-driven transformation is due to chromosome abnormalities but not Src-mediated growth signaling.

Honda T, Morii M, Nakayama Y, Suzuki K, Yamaguchi N, Yamaguchi N. *Sci. Rep.*, 8:1063, 2018. 査読有 doi: 10.1038/s41598-018-19599-1

A novel immunofluorescence method to visualize microtubules in the antiparallel overlaps of microtubule-plus ends in the anaphase and telophase midzone.

Ifuji A, Kuga T, Kaibori Y, Saito Y, Nakayama Y. *Exp. Cell Res.*, 360: 347-357, 2017. 査読有 doi.org/10.1016/j.mex.2018.04.011

Cytokinesis failure leading to chromosome instability in v-Src-induced oncogenesis.
Nakayama Y, Soeda S, Ikeuchi M, Kakae K, Yamaguchi N.
Int. J. Mol. Sci., 18: 811, 2017. 査読有 doi:10.3390/ijms18040811

v-Src-induced nuclear localization of YAP is involved in multipolar spindle formation in tetraploid cells.

Kakae K, Ikeuchi M, Kuga T, Saito Y, Yamaguchi N, Nakayama Y.
Cell. Signal., 30: 19-29, 2017. 査読有 doi.org/10.1016/j.cellsig.2016.11.014

Protective role for lipid modifications of Src-family kinases against chromosome missegregation.
Honda T, Soeda S, Tsuda K, Yamaguchi C, Aoyama K, Morinaga T, Yuki R, Nakayama Y, Yamaguchi N, Yamaguchi N.

Sci. Rep., 6:38751, 2016. 査読有 doi: 10.1038/srep38751

〔学会発表〕(計 23 件)

山岸あかね, 齊藤洋平, 中山祐治
細胞分裂における IGF1R の役割
日本薬学会第 139 年会 (千葉) 2019 年 3 月 20~23 日
萩野真理, 堀内麻利安, 久家貴寿, 齊藤洋平, 山口直人, 中山祐治
v-Src により誘導される mitotic slippage は抗がん剤感受性を低下させる
日本薬学会第 139 年会 (千葉) 2019 年 3 月 20~23 日
柿花采那, 大東優衣, 齊藤洋平, 中山祐治
Hsp105 は細胞の taxol 感受性に関与する
日本薬学会第 139 年会 (千葉) 2019 年 3 月 20~23 日
柿花采那, 大東優衣, 齊藤洋平, 中山祐治
Hsp105 は紡錘体チェックポイント制御を介して熱ショックによる細胞分裂停止に関与する
第 41 回 日本分子生物学会年会 (横浜) 2018 年 11 月 28 日~30 日
池内正剛, 抱恵子, 齊藤洋平, 山口直人, 中山祐治
v-Src による多核化した細胞への LATS2 の影響
第 41 回 日本分子生物学会年会 (横浜) 2018 年 11 月 28 日~30 日
山岸あかね, 奥村大喜, 齊藤洋平, 中山祐治
IGF1R による細胞周期制御
第 68 回 日本薬学会近畿支部総会・大会 (姫路) 2018 年 10 月 13 日
池内正剛, 抱恵子, 齊藤洋平, 山口直人, 中山祐治
v-Src による tetraploidy checkpoint の破綻を介した細胞のがん化・悪性化
第 68 回 日本薬学会近畿支部総会・大会 (姫路) 2018 年 10 月 13 日
柿花采那, 大東優衣, 齊藤洋平, 中山祐治
細胞分裂進行に及ぼす熱ショックの影響と Hsp105 による細胞分裂制御機構の解明
第 68 回 日本薬学会近畿支部総会・大会 (姫路) 2018 年 10 月 13 日
萩野真理, 堀内麻利安, 久家貴寿, 齊藤洋平, 山口直人, 中山祐治
v-Src は Cdk1 リン酸化を介して抗がん剤感受性を低下させる
第 68 回 日本薬学会近畿支部総会・大会 (姫路) 2018 年 10 月 13 日
堀内麻利安, 久家貴寿, 齊藤洋平, 長野麻衣子, 足立淳, 朝長毅,
山口直人, 中山祐治
Cdk1 のリン酸化を介した, v-Src による mitotic slippage の誘導
第 91 回 日本生化学会大会 (京都) 2018 年 9 月 24~26 日
柿花采那, 大東優衣, 齊藤洋平, 中山祐治
Hsp105 は cdc20 との結合を介して紡錘体チェックポイント制御に関与する
日本薬学会第 138 年会 (金沢) 2018 年 3 月 25~28 日
山岸あかね, 奥村大喜, 齊藤洋平, 中山祐治
IGF1R 阻害剤による染色体整列異常と細胞死の誘導
日本薬学会第 138 年会 (金沢) 2018 年 3 月 25~28 日
居藤亜弥, 久家貴寿, 海堀祐一郎, 齊藤洋平, 中山祐治
ミッドゾーン制御機構の解明を目指した新規免疫蛍光染色法の構築
日本薬学会第 138 年会 (金沢) 2018 年 3 月 25~28 日
本田拓也, 森井真理子, 中山祐治, 鈴木亘, 山口憲孝, 山口直人
がん遺伝子 v-Src はストカスティックな形質転換機構を引き起こす
日本薬学会第 138 年会 (金沢) 2018 年 3 月 25~28 日
柿花采那, 大東優衣, 齊藤洋平, 久家貴寿, 中山祐治
熱ショックタンパク質 Hsp105 の分裂期チェックポイント制御機構の解明

2017 年度生命科学系学会合同年次大会（神戸）2017 年 12 月 6 日～9 日

居藤亜弥，久家貴寿，海堀祐一郎，齊藤洋平，中山祐治

細胞分裂後期，終期に形成されるスピンドルミッドゾーン特異的な新規染色方法

2017 年度生命科学系学会合同年次大会（神戸）2017 年 12 月 6 日～9 日

本田拓也，森井真理子，中山祐治，鈴木亘，山口憲孝，山口直人

がん遺伝子 v-Src による染色体不安定性を介した形質転換

2017 年度生命科学系学会合同年次大会（神戸）2017 年 12 月 6 日～9 日

堀内麻利安，久家貴寿，齊藤洋平，朝長毅，中山祐治

Src の異常な活性化が細胞分裂異常を誘導する新規機構の解明

日本薬学会第 137 年会（仙台）2017 年 3 月 25～27 日。

本田拓也，鈴木亘，森井真理子，添田修平，阿部紘平，山口千尋，

久保田翔，青山和正，中山祐治，山口憲孝，山口直人

がん遺伝子 v-Src による細胞周期進行抑制の分子機構

日本薬学会第 137 年会（仙台）2017 年 3 月 25～27 日

抱恵子，池内正剛，本田拓也，久家貴寿，齊藤洋平，山口直人，

中山祐治

v-Src による多極紡錘体の形成

第 39 回日本分子生物学会年会（横浜）2016 年 11 月 30 日～12 月 2 日

⑲ 柿花采那，大東優衣，齊藤洋平，久家貴寿，中山祐治

熱ショックタンパク質 Hsp105 の分裂期チェックポイントへの関与

第 39 回日本分子生物学会年会（横浜）2016 年 11 月 30 日～12 月 2 日

⑳ 北郷真由絵，岡田美咲，海堀祐一郎，久家貴寿，齊藤洋平，中山祐治

細胞分裂後期特異的なタンパク質のチロシンリン酸化

第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会（大阪）2016 年 10 月 15 日

㉑ 上田菜津美，岩本絵里香，奥村大喜，久家貴寿，齊藤洋平，中山祐治

分裂期微小管の動態を指標とした，新規細胞分裂関連タンパク質の探索

日本薬学会第 136 年会（横浜）2016 年 3 月 26～29 日

〔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://labo.kyoto-phu.ac.jp/seika/saito/homu.html>

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：齊藤洋平

ローマ字氏名：SAITO YOUHEI

所属研究機関名：京都薬科大学

部局名：薬学部

職名：助教

研究者番号（8 桁）：9 0 4 1 1 0 3 2

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。