

令和元年6月12日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15641

研究課題名(和文)次世代型培養技術を駆使したびまん性星細胞腫モデル細胞の樹立

研究課題名(英文) Establishment of diffuse astrocytoma cell line utilizing advanced culture system

研究代表者

武笠 晃丈 (Mukasa, Akitake)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：90463869

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：原発性悪性脳腫瘍のうち最高頻度である神経膠腫(グリオーマ)の治療法開発のためには、細胞株の利用が不可欠である。一方、若年層に好発するIDH遺伝子変異を有す星細胞腫の細胞株は極めて少ない。そこで本研究では、1)種々の3次元培養法の活用、2)正常アストロサイトに対するがん関連遺伝子改変、3)IDH遺伝子変異神経膠腫手術検体の初代培養とそのiPS化、など種々の先端的技術を用いた樹立を試みた。完全なモデル樹立には至らなかったが、今後の樹立研究のための有用な技術基盤を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回細胞株樹立を目指したIDH遺伝子変異を有す星細胞腫は、若年層に好発する神経膠腫であり、罹患による社会的損失も大きく、その治療法開発は急務である。今回その細胞株樹立のために有用な技術基盤の情報を多く得ることができた。また、この星細胞腫樹立のために種々の先端的培養法を試みることで、それぞれの技術的限界や今後の改善すべき点を確認することができたことは、他の分野にも応用可能な知識で有り意義深い事項である。

研究成果の概要(英文)：It is essential that we use cell lines to develop treatment for the most frequently occurring malignant brain tumor, namely glioma. However, few cell lines of IDH-mutant glioma, which often occurs in the young, are available. Thus, in this study, we tried to establish these cell lines by taking advantage of the following advanced techniques; 1) the use of various three-dimensional culture methods, 2) the introduction of oncogenic gene alterations into normal human astrocytes, 3) the primary culture of surgically resected specimens of IDH-mutant gliomas, and the production of iPS cell lines from these cultured cells. We could not establish an ideal model cell line, however, we obtained a lot of useful technical information that can be used for the future development of IDH-mutant glioma cell lines.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：神経膠腫 星細胞腫 IDH遺伝子 細胞モデル

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

1. 研究開始当初の背景

IDH 遺伝子変異を有する星細胞腫の研究において、そのヒト病態に即した細胞株の欠如が、研究開発を行う上での大きな課題である。過去の研究では例えば hTERT により不死化した星状細胞(Sonoda Y et al. Cancer Res 2001)が実験に用いられてきたが、実際の星細胞腫には認めない遺伝子異常を有し、びまん性星細胞腫を忠実に反映していない。

我々は、これまで、星細胞腫の初発と再発悪性化後のゲノム・エピゲノム・発現の比較解析を行うことで、悪性転化に関連したドライバー変異遺伝子候補や、治療後に問題となる hypermutator phenotype といった病態を同定してきたが、これらを検証するのに最適な細胞株がないことで、その後の実験の妨げとなっている。

そこで、我々は、以下の2つの方法でびまん性星細胞腫細胞株の樹立を試みてきたが、従来の方法での細胞株樹立は困難であり、次世代型培養技術を駆使することを中心とした変更の必要性を認識している。一つは正常アストロサイトに遺伝子変異を導入して発癌モデルの作成を行う方法で、レンチウイルスを用いて遺伝子導入にて形質転換を試みてきた。近年、神経前駆細胞を用いて小児神経膠腫モデルを作成に成功した報告もあり(Funato K et al. Science 2014)、本研究では、より未分化な正常細胞も使用するとともに、培養条件の変更を目指すこととした。もう一つは、手術検体を用いる方法である。これまで我々は幹細胞培養条件での培養を行ってきたが、膠芽腫では細胞株樹立できたのに対して、びまん性星細胞腫では成功に至っていない。一方、検体を直接免疫不全マウスの頭蓋内や皮下に移植することで継代を維持できたとする報告があり(Borodovsky et al. Oncotarget 2013)、びまん性星細胞腫でも *in vivo* 環境であれば増殖できることが示唆された。そこで3次元培養を用いる方法を着想した。この方法により生体内ニッチを模倣した環境が実現可能で、消化管上皮細胞の有用な生体外培養手段として昨今注目を浴びており(Sato T et al. Nature 2009)、神経膠腫にも応用可能ではないかと考えた。

2. 研究の目的

神経膠腫(glioma)は最も多い原発性悪性脳腫瘍で、星細胞腫系腫瘍はその代表格である。そのうち、びまん性星細胞腫は WHO グレード II に分類されるが、その多くが段階的にグレード IV の膠芽腫へと悪性転化し、5-10年で死に至る予後不良な疾患である。びまん性星細胞腫は IDH 遺伝子変異を有し、これを有さない膠芽腫とは性質が異なると考えられるが、IDH 遺伝子変異を有する星細胞腫の細胞株樹立は困難とされており、本腫瘍に即した研究や治療法開発困難にしている。本研究では、びまん性星細胞腫が通常有する遺伝子異常を有し、生物学的特徴を忠実に再現した細胞株を、次世代型培養技術を駆使して樹立し、それなしでは困難と考えるびまん性星細胞腫の悪性転化や化学療法耐性メカニズムの病態解明や新規治療開発に応用することを目的とする。

3. 研究の方法

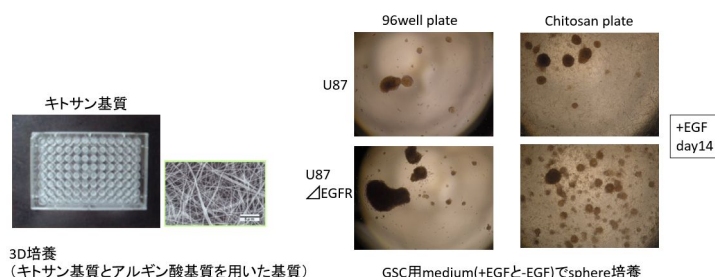
びまん性星細胞腫モデル細胞の1)作成、2)検証、3)活用の順に研究を進める。1)作成では、a)正常アストロサイト及びより未分化な正常細胞に、びまん性星細胞腫の原因遺伝子とされる複数の遺伝子変異を導入し形質転換を行い、次世代型培養技術にて選択的増殖をさせることで、びまん性星細胞腫モデル細胞を作成する。b)びまん性星細胞腫手術検体からも、3次元オルガノイド培養技術などを応用して細胞株を樹立する。2)検証では、1)で樹立した細胞の *in vitro*, *in vivo* における腫瘍原性を多角的に評価すると共に、びまん性星細胞腫に特徴的なゲノムワイドメチル化の状態を検証する。3)活用では、樹立した細胞を用い、a)これまでに臨床検体のエクソーム解析で得られた悪性化候補遺伝子の validation を行う。b)化学療法後の腫瘍悪性化に伴う hypermutator phenotype 出現機構の解明を行う。

4. 研究成果

(1) [3次元培養法の活用]

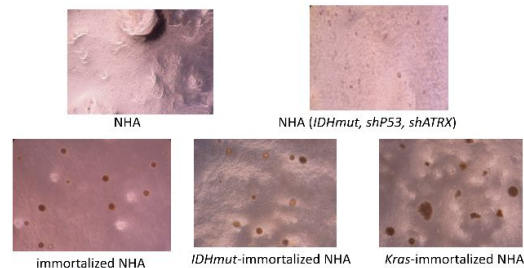
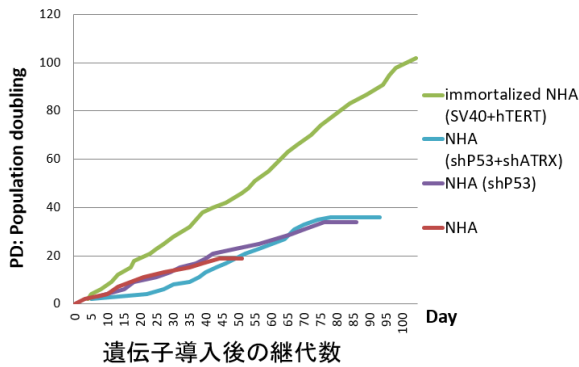
従来型の培養方法で樹立困難な IDH 遺伝子変異を有する神経膠腫の細胞モデルを作成すべく研究に着手した。最近の消化管領域の研究では複数の増殖因子投与下にマトリゲル内で3次元培養することでオルガノイド培養を行う手法が確立されており、まずはこれを模して、通常の液体3次元培養可能な神経膠芽腫の腫瘍幹細胞株をマトリゲル内で培養した。しかしながら様々な増殖因子を組み合わせ投与するも、この方法では増殖せず、むしろ従来の液体培地での浮遊培養の方の増殖が良かったため、管腔を形成する消化管細胞と異なりグリア細胞には不向きである可能性が示唆された。

また、神経膠腫細胞株の増殖を促進する培養条件を検討するため、種々の基質を用いた3次元及び2次元培養法の比較検討による評価を行ったところ、器質と培養条件の組み合わせにより細胞株の増殖に相違があることが明らかとなり(図)、これらを使い分けることにより IDH 変異星細胞株の樹立が可能となる可能性も示唆された。



(2)【正常アストロサイトをを用いたがん関連遺伝子改変】

アストロサイトを通常通り接着培養し、IDH 遺伝子変異を有する神経膠腫が一般に有する遺伝子異常を導入していくこととした。変異 IDH1(R132H)遺伝子をクローニングし、レンチウイルスベクターを用いてアストロサイトに導入した。その後、アストロサイトーマで見られ、ALT (alternative lengthening of telomeres) を引き起こすと考えられる ATRX の knock down 及び CRISPR/CAS による knock out を行ったが、最終的に crisis を迎えてしまった。そこで IDH 遺伝子変異導入に加え、hTERT, SV40 を導入したところ、100 継代以上経ても増殖を維持できる細胞を樹立し得た(図)。前述の通りこの細胞は ALT ではなく TERT の活性化で無限増殖しているという点でアストロサイトーマとは異なるも、同様に樹立困難な IDH 遺伝子変異や TERT プロモーター変異のある二次性膠質腫の性質を模していると考えられた。



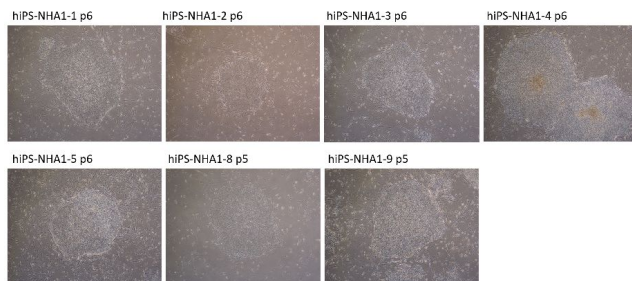
Soft agar assayによる足場非依存性増殖の評価

Krasの導入でコロニー数の増加を認める IDHのみでは明らかな変化を確認できず

(3)【IDH 遺伝子変異陽性グリオーマの初代培養及び iPS 細胞化】

腫瘍手術切除検体からの初代培養による IDH 遺伝子変異陽性細胞の樹立を試みる。このため種々の悪性化過程にある IDH 変異のアストロサイトーマの腫瘍検体の培養を試みた。その結果、一定期間の培養は可能であるが、継代を続けると細胞増殖が困難となり樹立にいたらなかった。

そこで、初代培養細胞を一度 iPS 細胞化し、その後これを増殖させ、モデル細胞として用いることとした。まず、その前段階として、正常アストロサイトを iPS 化する条件確立のため、エピソーマルベクターにて iPS 細胞誘導を行ったところ、7 系統の iPS 細胞様の細胞株樹立に成功した(図)。次に、IDH 変異星細胞腫の iPS 化技術確立のため、まずは、悪性度の高い膠芽腫の初代培養により作成した膠芽腫幹細胞様株からの iPS 細胞作成を行うこととした。そのため、膠芽腫臨床切除検体を用いて、継続的な膠芽腫幹細胞様株の樹立を行った。これらの膠芽腫幹細胞様株に関しては、xenograft としての腫瘍形成能などの評価を順次施行した。そして、これら膠芽腫幹細胞様株を用い、アストロサイト同様のエピソーマルベクターを用いた方法を基盤として、様々な条件を検討しつつ iPS 細胞株化を図ったが、残念ながら研究期間中には神経膠腫からの iPS 細胞樹立には至らなかった。さらなる技術的改良が必要と考えられた。



NHAよりの iPS 細胞樹立 7株樹立: hiPS-NHA 1-1~1-5, 1-8, 1-9

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計 24 件)

Nomura M, Saito K, Aihara K, Nagae G, Yamamoto S, Tatsuno K, Ueda H, Fukuda S, Umeda T, Tanaka S, Takayanagi S, Otani R, Nejo T, Hana T, Takahashi S, Kitagawa Y, Omata M, Higuchi F, Nakamura T, Muragaki Y, Narita Y, Nagane M, Nishikawa R, Ueki K, Saito N, Aburatani H, Mukasa A. DNA demethylation is associated with malignant progression of lower-grade gliomas, *Sci Rep*. 査読有, 2019, 9, 1903, DOI: 10.1038/s41598-019-38510-0

Takahashi M, Soma T, Mukasa A, Tanaka S, Yanagisawa S, Momose T, Pattern of FDG and MET Distribution in High- and Low-Grade Gliomas on PET Images, *Clin Nucl Med*. 査読有, 2019, 44, 265-271, DOI: 10.1038/s41598-019-38510-0

Mizutani H, Nakane S, Ikeda T, Nakamura H, Takamatsu K, Makino K, Tawara N, Mukaino A, Watari M, Matsui H, Mukasa A, Ando Y. CSF TACI and BAFF levels in patients with primary CNS lymphoma as novel diagnostic biomarkers, *Ann Clin Transl Neurol*. 査読有, 2018, 5, 1611-1616, DOI: 10.1097/RLU.0000000000002460

Nakagawa M, Nakaura T, Namimoto T, Kitajima M, Uetani H, Tateishi M, Oda S, Utsunomiya D, Makino K, Nakamura H, Mukasa A, Hirai T, Yamashita Y, Machine learning based on multi-parametric magnetic resonance imaging to differentiate glioblastoma multiforme from primary

cerebral nervous system lymphoma, *Eur J Radiol*, 査読有、2018、108、147-154、DOI: 10.1002/acn3.668

Funato K, Hayashi T, Echizen K, Negishi L, Shimizu N, Koyama-Nasu R, Nasu-Nishimura Y, Morishita Y, Tabar V, Todo T, Ino Y, Mukasa A, Saito N, Akiyama T, SIRT2-mediated inactivation of p73 is required for glioblastoma tumorigenicity, *EMBO Rep*, 査読有、2018、19、pii: e45587、DOI: 10.1016/j.ejrad.2018.09.017

Makino K, Nakamura H, Shinojima N, Kuroda JI, Yano S, Mikami Y, Mukasa A, BCL2 expression is associated with a poor prognosis independent of cellular origin in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma, *J Neurooncol*, 査読有、2018、140、115-121、DOI: 10.15252/embr.201745587

Miki S, Imamichi S, Fujimori H, Tomiyama A, Fujimoto K, Satomi K, Matsushita Y, Matsuzaki S, Takahashi M, Ishikawa E, Yamamoto T, Matsumura A, Mukasa A, Nishikawa R, Masutomi K, Narita Y, Masutani M, Ichimura K, Concomitant administration of radiation with eribulin improves the survival of mice harboring intracerebral glioblastoma, *Cancer Sci*, 査読有、2018、109、2275-2285、DOI: 10.1007/s11060-018-2940-3

Otani R, Uzuka T, Higuchi F, Matsuda H, Nomura M, Tanaka S, Mukasa A, Ichimura K, Kim P, Ueki K, IDH-mutated astrocytomas with 19q-loss constitute a subgroup that confers better prognosis, *Cancer Sci*, 査読有、2018、109、2327-2335、DOI: 10.1111/cas.13637

Sato I, Higuchi A, Yanagisawa T, Murayama S, Kumabe T, Sugiyama K, Mukasa A, Saito N, Sawamura Y, Terasaki M, Shibui S, Takahashi J, Nishikawa R, Ishida Y, Kamibeppu K, Employment status and termination among survivors of pediatric brain tumors: a cross-sectional survey, *Int J Clin Oncol*, 査読有、2018、23、801-811、DOI: 10.1111/cas.13635

Hide T, Komohara Y, Miyasato Y, Nakamura H, Makino K, Takeya M, Kuratsu JI, Mukasa A, Yano S, Oligodendrocyte Progenitor Cells and Macrophages/Microglia Produce Glioma Stem Cell Niches at the Tumor Border, *EBioMedicine*, 査読有、2018、30、94-104、DOI: 10.1007/s10147-018-1279-2

Shinojima N, Fujimoto K, Makino K, Todaka K, Yamada K, Mikami Y, Oda K, Nakamura K, Jono H, Kuratsu JI, Nakamura H, Yano S, Mukasa A, Clinical significance of polyglutamylation in primary central nervous system lymphoma, *Acta Neuropathol Commun*, 査読有、2018、6、15、DOI: 10.1186/s40478-018-0522-4

武笠 晃丈, 脳腫瘍のゲノム診療に向けて, *Clin Neurosci*, 査読無、2018、36、539-542、DOI: 無

武笠 晃丈, 神経膠腫の不均一性による治療抵抗性とその治療戦略 がん不均一性を理解し治療抵抗性に挑む 実験医学, 査読無、2018、36、307-313、DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.02.024.

Komuro A, Raja E, Iwata C, Soda M, Isogaya K, Yuki K, Ino Y, Morikawa M, Todo T, Aburatani H, Suzuki H, Ranjit M, Natsume A, Mukasa A, Saito N, Okada H, Mano H, Miyazono K, Koinuma D, Identification of a novel fusion gene HMGA2-EGFR in glioblastoma, *Int J Cancer*, 査読有、2017、142、1627-1639、DOI: 10.1186/s40478-018-0522-4

Takai K, Tanaka S, Sota T, Mukasa A, Komori T, Taniguchi M, Spinal Cord Astrocytoma with Isocitrate Dehydrogenase 1 Gene Mutation, *World Neurosurg*, 査読有、2017、108、991.e13-991.e16、DOI: 10.1002/ijc.31179

Nomura M, Mukasa A, Nagae G, Yamamoto S, Tatsuno K, Ueda H, Fukuda S, Umeda T, Suzuki T, Otani R, Kobayashi K, Maruyama T, Tanaka S, Takayanagi S, Nejo T, Takahashi S, Ichimura K, Nakamura T, Muragaki Y, Narita Y, Nagane M, Ueki K, Nishikawa R, Shibahara J, Aburatani H, Saito N, Distinct molecular profile of diffuse cerebellar gliomas, *Acta Neuropathol*, 査読有、2017、134、941-956、DOI: 10.1016/j.wneu.2017.08.142

Otani R, Mukasa A, Shin M, Omata M, Takayanagi S, Tanaka S, Ueki K, Saito N, Brachyury gene copy number gain and activation of the PI3K/Akt pathway: association with upregulation of oncogenic Brachyury expression in skull base chordoma, *J Neurosurg*, 査読有、2017、128、1-10、DOI: 10.1007/s00401-017-1771-1

Takayanagi S, Mukasa A, Tanaka S, Nomura M, Omata M, Yanagisawa S, Yamamoto S, Ichimura K, Nakatomi H, Ueki K, Aburatani H, Saito N, Differences in genetic and epigenetic alterations between von Hippel-Lindau disease-related and sporadic hemangioblastomas of the central nervous system, *Neuro-Oncology*, 査読有、2017、19、1228-1236、DOI: 10.3171/2016.12.JNS161444

Takahashi M, Soma T, Mukasa A, Koyama K, Arai T, Momose T, An automated voxel-based method for calculating the reference value for a brain tumour metabolic index using 18F-FDG-PET and 11C-methionine PET, *Ann Nucl Med*, 査読有、2017、31、250-259、DOI: 10.1093/neuonc/nox034

Nakamura T, Yamashita S, Fukumura K, Tanaka K, Tamura K, Tateishi K, Kinoshita M, Fukushima S, Takami H, Fukuoka K, Yamazaki K, Matsushita Y, Ohno M, Miyakita Y, Shibui S, Kubo A, Shuto T, Kocialkowski S, Yamanaka S, Mukasa A, et al., Genome-wide DNA methylation profiling identifies primary central nervous system lymphoma as a distinct entity different from systemic diffuse large B-cell lymphoma, *Acta Neuropathologica*, 査読有、2017、133、321-324、DOI: 10.1007/s12149-017-1153-8

- 21 Nagashima H, Tanaka K, Sasayama T, Irino Y, Sato N, Takeuchi Y, Kyotani K, Mukasa A, Mizukawa K, Sakata J, Yamamoto Y, Hosoda K, Itoh T, Sasaki R, Kohmura E. Diagnostic value of glutamate with 2-hydroxyglutarate in magnetic resonance spectroscopy for IDH1 mutant glioma. *Neuro Oncol*. 査読有、2016、18、1559-1568, DOI: 1007/s00401-016-1664-8
- 22 Aihara K, Mukasa A, Nagae G, Nomura M, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Shibahara J, Takahashi M, Momose T, Tanaka S, Takayanagi S, Yanagisawa S, Nejo T, Takahashi S, Omata M, Otani R, Saito K, Narita Y, Nagane M, Nishikawa R, Ueki K, Aburatani H, Saito N. Genetic and epigenetic stability of oligodendrogliomas at recurrence. *Acta Neuropathol Commun*. 査読有、2017、4、18, DOI:10.1186/s40478-017-0422-z.
- 23 武笠 晃丈、脳腫瘍におけるヒストン H3K27M 変異の意義、*Neuro-Oncology の進歩 (Progress in Neuro-Oncology)*、査読有、2017、24、7-17, DOI:org/10.11452/neurooncology.24.1_7
- 24 Arita H, Yamasaki K, Matsushita Y, Nakamura T, Shimokawa A, Takami H, Tanaka S, Mukasa A, Shirahata M, Shimizu S, Suzuki K, Saito K, Kobayashi K, Higuchi F, Uzuka T, Otani R, Tamura K, Sumita K, Ohno M, Miyakita Y, Kagawa N, Hashimoto N, Hatae R, Yoshimoto K, Shinjima N, Nakamura H, Kanemura Y, Okita Y, Kinoshita M, Ishibashi K, Shofuda T, Kodama Y, Mori K, Tomogane Y, Fukai J, Fujita K, Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Moriuchi S, Nonaka M, Suzuki H, Shibuya M, Maehara T, Saito N, Nagane M, Kawahara N, Ueki K, Yoshimine T, Miyaoka E, Nishikawa R, Komori T, Narita Y, Ichimura K. A combination of TERT promoter mutation and MGMT methylation status predicts clinically relevant subgroups of newly diagnosed glioblastomas. *Acta Neuropathol Commun*. 査読有、2016、4、79, DOI:10.1186/s40478-016-0351-2.

[学会発表] (計 20 件)

- 武笠晃丈、グリオーマのゲノム・エピゲノム異常、九州遺伝子診断研究会、2018
- 武笠晃丈、脳腫瘍のゲノム医療、日本脳神経外科学会学術総会、2018
- 武笠晃丈、組織・細胞形態と分子プロファイルの多様性から考える脳腫瘍治療戦略、日本組織細胞化学会総会・学術集会、2018
- 武笠晃丈、マルチモダリティー時代のグリオーマ治療戦略、日本脳腫瘍の外科学会、2018
- Akitake Mukasa, Glioma: What does the average neurosurgeon need to know about current progress in molecular biology and how will this affect our treatment strategies?, Society of Neurosurgeons of South Africa Congress, 2018
- 武笠晃丈、多様なグリオーマに対する precision medicine の可能性と課題、脳腫瘍の基礎シンポジウム、2018
- Akitake Mukasa 他、Molecular characteristics of diffuse cerebellar glioma, International Conference on Brain Tumor Research & Therapy, 2018
- 武笠晃丈 他、初発・再発神経膠腫のマルチオミクス比較解析から考える悪性転化機序とその治療戦略、第 35 日本脳腫瘍学会、2017
- Akitake Mukasa 他、Integrated and comparative multi-omics analysis of primary and recurrent glioma and its clinical application、第 76 回日本脳神経外科学会、2017
- 武笠晃丈 他、再発 oligodendroglioma の ゲノム・エピゲノムの安定性、第 34 回日本脳腫瘍病理学会、2017
- Akitake Mukasa 他、Characteristic molecular profile changes in primary and recurrent gliomas depending on their histopathology, 22nd Annual Meeting of the Society of Neuro-Oncology, 2017
- Akitake Mukasa 他、Genetic and epigenetic stability of oligodendrogliomas at recurrence, The 14th Meeting of the Asian Society for Neuro-Oncology, 2017
- Akitake Mukasa, Spatial Heterogeneity of Molecular Profiles in Gliomas and its Implications for Cell-of-Origin and Targeted Therapy, The 72nd Fujihara Seminar, 2017
- Akitake Mukasa 他、The characteristics of molecular profile changes in recurrent lower grade gliomas and their implication for therapeutic strategy, 5th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology Societies, 2017
- Akitake Mukasa 他、The characteristics of molecular profile changes in recurrent lower grade gliomas and their implication for therapeutic strategy, The 8th Institute for Refractory Cancer Research (IRCR) International Symposium, 2017
- 武笠晃丈 他、神経膠腫再発時の分子遺伝学的変化の知見に基づく治療戦略の構築、第 34 回日本脳腫瘍学会学術集会、2016
- Akitake Mukasa 他、Molecular pathological analysis on IDH-wildtype adult low-grade gliomas, 21th Annual Meeting of the Society of Neuro-Oncology, 2016
- Akitake Mukasa, Influence of anticancer therapy on clonal evolution and intratumoral heterogeneity of gliomas, 75rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2016
- 武笠晃丈 他、再発神経膠腫の分子遺伝学的変化に基づく治療戦略の構築(口演) 第 75 回日本脳神経外科学会、2016
- 武笠晃丈、グリオーマのゲノム多様性とクローン進化に及ぼす抗がん治療の影響、第 21 回日本脳腫瘍の外科学会、2016

〔図書〕(計2件)

武笠晃丈、文光堂、上衣系腫瘍 グリオーマ治療の Decision Making 脳神経外科診療プラクティス、2016、59-63

武笠晃丈、田中將太、斉藤延人、日本臨床社、脳腫瘍の部位別発症頻度と問題点 脳腫瘍学、2016、95-99

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

該当なし

取得状況(計 0件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名:田中 將太

ローマ字氏名:(TANAKA, shota)

(2)研究協力者

研究協力者氏名:高柳 俊作

ローマ字氏名:(TAKAYANAGI, shunsaku)

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。