

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02331

研究課題名(和文) 体液顕微解剖の実践：原尿中エクソソーム由来マイクロRNAに腎障害マーカーを求めて

研究課題名(英文) Liquid microanatomy to discover the renal injury markers from exosome-derived microRNAs in primitive urine

研究代表者

市居 修 (Ichii, Osamu)

北海道大学・獣医学研究院・准教授

研究者番号：60547769

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)：動物、ヒトともに腎臓病症例が増えている。体液中バイオマーカーを用いて非侵襲的に診断や治療効果の判定等を行う技術はLiquid Biopsyと呼ばれ、その臨床応用が期待されている。本研究では、腎臓のLiquid Biopsyを実現する分子として、エクソソームに着目した。本研究の結果より、腎障害初期に拡張した尿細管腔(原尿を含む)にエクソソームの存在が示唆された。エクソソームは尿に出現し、マイクロRNAを含んだ。特に、尿中miR-21の上昇は尿細管間質の病変を示すと考えられた。一方、血中miR-21の上昇は糸球体の足細胞傷害にも関連することが示唆され、血液と尿でその病態意義は異なると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの慢性腎臓病は8人に1人が罹患する国民病であり、本国の血液透析導入率は世界一である。獣医療も同様の問題を抱え、特に15歳以上のネコでは30%以上の個体が慢性腎臓病を患う。ヒト、動物ともに血中クレアチニンや尿素窒素等は腎機能の評価には有用だが、Liquid Biopsy(非侵襲的に診断や治療効果の判定等を行う技術)の実現には、高い臓器特異性・早期検出を実現する複数マーカーの探索が必要である。これらの問題解決のため、本研究では腎臓内の微量な体液(原尿)に含まれる小さなカプセル(エクソソーム)をマーカー候補とし、その精査を実施した。

研究成果の概要(英文)：The number of kidney disease cases is increasing in both animals and humans. The technology for non-invasive diagnosis and evaluation of therapeutic effects using biomarkers in body fluids is called Liquid Biopsy, and its clinical application is expected. In this study, we focused on exosomes as a molecule that can realize Liquid Biopsy in the kidney. The results of this study suggested the presence of exosomes in the dilated tubular lumen (including the primary urine) in the early stage of renal injury. The exosomes appeared in urine and contained microRNAs. In particular, elevated urinary miR-21 was considered to indicate tubulointerstitial lesions. On the other hand, elevated blood miR-21 was also associated with glomerular podocyte injury, suggesting that the pathological significance of blood and urine miR-21 is different.

研究分野：獣医学、解剖学、腎泌尿器学

キーワード：慢性腎臓病 獣医学 イヌ ネコ エクソソーム Liquid Biopsy miRNA 尿

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

“地球上の健全な生態系の維持は、ヒト、動物、環境の健康が相まって達成される”、これは One Health の概念である。本研究ではその根幹を脅かす事象として、腎臓病の増加に着目している。近年、高齢化社会や生命維持技術の進歩は急性腎障害リスク患者を絶対的に増加させた。ヒト、動物ともに急性腎障害の発症は死に直結し、特にヒトでは死亡率が 50% を超える。急性腎障害から慢性腎臓病への移行例も多く、その進行は末期腎不全を導く。ヒトの慢性腎臓病は 8 人に 1 人が罹患する国民病であり、本国の血液透析導入率は世界一である。獣医療も同様の問題を抱え、特に 15 歳以上のネコでは 30% 以上の個体が慢性腎臓病を患う。

ヒト、動物ともに腎臓病診断には血中クレアチニンや尿素窒素が汎用される。一方、両マーカーの変動期には、腎臓の器質的傷害がおきている。つまり、血中クレアチニンや尿素窒素では初期の腎障害を検出できず、これは実験動物を用いた薬効評価や毒性試験等でも問題となる。近年、L-FABP、SDMA、NGAL 等が新たな腎障害マーカーとして注目されているが (AKI 診療ガイドライン 2016)、次世代医療の実現にはさらに感度や特異性の高い新たなバイオマーカーが必要となる。

腎臓の病理は、主に濾過装置である“糸球体”と、再吸収・分泌装置である“尿細管間質”に分けて考えられ、腎臓病ではいずれかあるいは両方が壊される。通常、腎臓病の確定診断は腎生検で行われ、治療方針決定に重要だが、侵襲性が高く、患者の負担は大きい。近年、体液中バイオマーカーを用いて非侵襲的に診断や治療効果の判定等を行う技術は、“液体生検 = Liquid Biopsy”と呼ばれ、その臨床応用が期待されている。従来の血中クレアチニンや尿素窒素等は腎機能の評価には有用だが、病型の予測には劣る。本研究では、腎臓の Liquid Biopsy を実現できるマーカー分子として、細胞外小胞の 1 つ、“エクソソーム”に着目している。

## 2. 研究の目的

エクソソームは直径約 100 nm の細胞外小胞で、体液を流れてさまざまな物質を運ぶ。近年、その内包分子は各疾患のバイオマーカーとして注目されている。これまで報告者は、尿中エクソソーム由来マイクロ RNA に着目し、腎臓病罹患イヌ・ネコの精査から腎障害マーカー候補を解析してきた (*Sci Rep* 7:40340, 2017; *Front Vet Sci* 5:289, 2018)。以下に、獣医学領域で尿中エクソソーム由来マイクロ RNA を腎障害マーカーとする利点を述べる

短鎖であり、エクソソームに包まれるため、構造が安定し、尿中でも分解されにくい

マイクロ RNA は mRNA を標的として分解するため、腎病理プロセスの上流を制御している  
マイクロ RNA の塩基配列には動物種差が少なく、動物種を越えた外挿研究に有利である

Liquid Biopsy の臨床応用には、高い臓器特異性・早期検出を実現するマーカーが複数必要である。しかし、尿や血液から行う従来の腎障害マーカー探索法では、他の臓器、特に尿路の影響を除外できない。これらの問題解決のため、応募者は腎臓内の微量な体液、“原尿”に含まれるエクソソームの精査を着想した。原尿は尿よりも直接的な腎組織情報を集約するが、これまで原尿中エクソソーム由来マイクロ RNA の知見はない。

## 3. 研究の方法

**CD9 の腎臓内局在解析：**近交系マウス (5-8 ヶ月齢) の腎臓を用い、免疫組織化学法により CD9 の腎臓内局在を、免疫電子顕微鏡法でその細胞内・尿細管腔内局在を解析した。

**腎盤の組織解析：**上記マウスの腎盤を用い、その組織構造を解析した。

**虚血再灌流モデルマウスの解析：**C57BL/6N の雄 (3 ヶ月齢,  $n = 4$ ) を用い、腎臓の虚血再灌流処置後 (45 分)、24 時間で腎臓を採取し、病理組織を解析した。また、Laser Microdissection で切片上の尿細管と管腔からマイクロ RNA を抽出し、定量した。

**尿管結紮モデルマウスの解析：**C57BL/6N の雄 (9 週齢,  $n = 4$ ) を用い、尿管結紮後に腎臓と血液・尿を採取し、腎病理と腎臓内の RNA 発現を解析した。また、本マウスからピーズ法で糸球体を取り出し、培養後にマイクロ RNA で刺激した。

**シスプラチン投与イヌの解析：**シスプラチン投与イヌ ( $70\text{mg}/\text{m}^2$ ) の腎病理および血中・尿中マイクロ RNA 量を解析した。

## 4. 研究成果

### ① CD9 の腎臓内局在

CD9 はエクソソームマーカーの 1 つとして知られる。本研究では、腎臓における CD9 のエクソソームマーカーとしての有用性を検証するため、免疫染色を実施した。また、DBA/2 は健全な近交系マウスだが、部分的に遠位尿細管の部分的囊胞化を示すことが知られている。CD9 陽性反応は主に遠位尿細管上皮細胞の基底線条領域ならびに尿細管間質の単核細胞の細胞表面に認められた。また、軽度囊胞化した尿細管の管腔内に CD9 陽性の顆粒状構造が認められた (図 1、矢印)。これら顆粒構造は拡張した尿細管の管腔に存在するエクソソームである可能性を考え、免疫電子顕微鏡による可視化を試みたが、明瞭な CD9 陽性構造を検出することはできなかった。超微形態レベルにおける CD9 陽性エクソソームの可視化については、現在も検証を続けている。

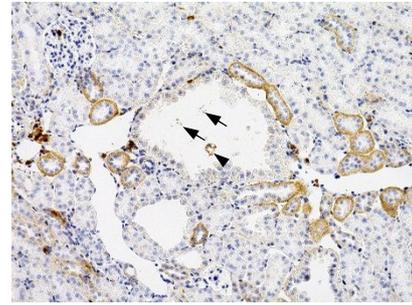


図 1. マウス腎臓の CD9 免疫染色。矢印: 管腔内の CD9 陽性構造。矢頭: 脱落細胞。

以上より、健全状態において CD9 陽性構造は遠位尿細管上皮細胞の側面嵌合部分に局在し、拡張した尿細管ではその管腔にも認められることが示された。

### 尿中エクソソームの運命

原尿に放出されたエクソソームの運命として、尿への出現に加えて、尿細管、集合管あるいは尿路移行上皮細胞からの再吸収を想定し、特に腎盤の解析を進めた。健全マウス腎臓深部の腎盤の移行上皮直下には、膠原線維、細網線維、リンパ管、高内皮細静脈、線維芽細胞に加えて、T 細胞、B 細胞ならびにマクロファージなどの免疫細胞が配置されていた。

これらの結果を基に、腎盤構成細胞が尿中エクソソームから免疫学的な情報を受け取り、尿路泌尿器間の情報伝達に關与する可能性を考え、引き続き観察を継続している。

### 腎疾患モデルマウスの体液中マイクロ RNA

虚血再灌流モデルマウスを作出し、処置後 1 日で腎臓と尿を採取し、その病理像を解析した。尿細管、特に遠位尿細管の拡張を確認した。Laser Microdissection 技術で拡張した尿細管腔 (原尿で満たされていると考えられる) を回収し、RNA を抽出した。過去の報告を基に、腎疾患関連マイクロ RNA (mi-R21、miR-146a、let-7 等) の発現を解析した。解析したマイクロ RNA において、回収した管腔領域で miR-21 が検出され、その発現上昇がモデルマウスで示唆された (図 2)。また本モデルマウスでは、尿中エクソソーム由来 miR-21 も増加していた。

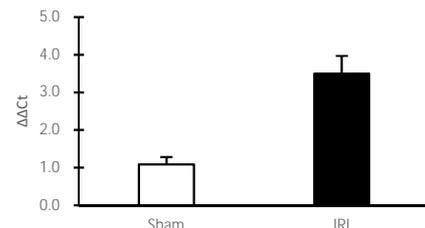


図 2. miR-21 の定量。定量的 PCR 法。Sham: Sham 群の尿細管間質。IRI: 虚血再灌流群の尿細管管腔領域。

加えて、尿管結紮モデルを用い、miR-21 の動態と病理学的意義を検証した。これまで尿管結紮モデルは尿細管間質障害の誘導を目的として作出されてきたが、報告者らは本モデルの糸球体でもその構成細胞 (足細胞) の傷害が起きていることを明らかにした。尿管結紮 21 日目のマウス糸球体では、足細胞マーカー (ネフリン、シナプトポディン) の発現が有意に減少し、細胞足は一部癒合消失していた。一方、本モデルマウスの血中および糸球体内の miR-21 量は増加しており、その受容体候補である Toll 様受容体 8 (TLR8) は足細胞に発現していた。足細胞の TLR8 発現量およびその下流分子であるインターロイキン-1 (IL-1) の発現量は、尿管結紮 21 日目で増加していた。尿管結紮モデルから分離した糸球体を miR-21 で刺激したところ、IL-1 等、TLR8 シグナル下流分子の発現が上昇した (図 3)。

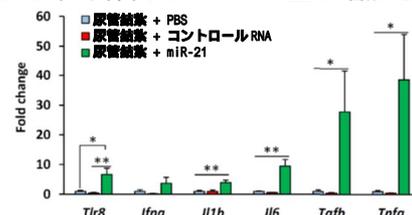


図 3. 分離糸球体の刺激実験。定量的 PCR 法。Front Immunol 606488, 2021 を一部改変。

以上の解析により、miR-21 は尿細管間質病変の進行に重要な役割を果たし、その病理変化を知らせる Liquid Biopsy マーカーになる可能性を示した。さらに miR-21 は足細胞傷害にも関連し、TLR のリガンドとしてシグナルカスケードの上流に位置することも明らかとなった。

## シスプラチン投与イヌにおける体液中マイクロRNAの動態

シスプラチン投与後のイヌから血液および尿を得て、イヌにおけるエクソソーム由来マイクロRNAの腎障害マーカー候補 (miR-21, miR-26a, miR-10a, miR-10b; *Sci Rep* 7:40340, 2017) の量を測定した (図 4)。血中マイクロRNA量においては、投与後 12 時間以内に miR-21、miR-26a ならびに miR-10a の量が上昇した。

尿中マイクロRNA量においては、投与後、12 時間および 168 時間で miR-21 の量が上昇した。これら体液中 miR-21 量の上昇は血中尿素窒素や血中クレアチニンの上昇よりも早かった。

以上の結果と疾患モデルマウスの知見を基に、体液中マイクロRNA、特に miR-21 の出現は腎障害を反映している可能性が考えられた。

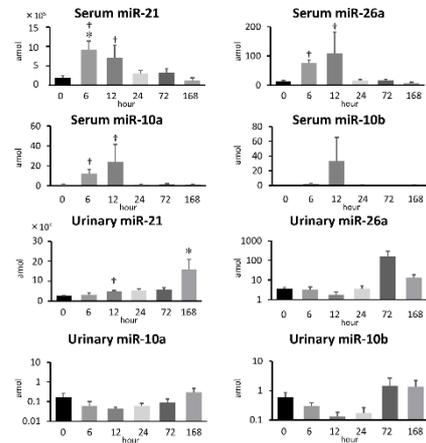


図 4. 体液中マイクロRNA量. 定量的PCR法. \*: 0 時間との有意差 (多重比較検定). †: 0 時間との有意差 (二群検定). 0 時間との有意差 (多重比較) *Jpn J Vet Res* 69:109-124, 2021 を一部改変.

## 本研究のまとめとリミテーションについて

得られた結果より、初期の腎障害によって拡張した尿細管腔 (原尿) には、エクソソームが存在することが示された。これらエクソソームは尿中に出現し、マイクロRNAを含む。特に、尿中 miR-21 の上昇は尿細管間質領域の病変を示すと考えられた。一方、血中 miR-21 は糸球体の足細胞傷害にも関連すると考えられ、同じマイクロRNAでも血中と尿中でその病態意義は異なるのかもしれない。

更なるエビデンスを収集するため、エクソソームマーカーを用いた超微形態観察による証明が必要である。また研究期間中、虚血再灌流モデルマウスの腎臓を用い、Laser Microdissectionで尿細管腔領域の回収とRNAクオリティチェックを実施したが、次世代シーケンズ法に適応な量と質を担保することができなかった。解決策として既知のマイクロRNAに絞って解析を実施したが、この点は本研究の解決すべき課題である。Liquid Biopsyの実現に向け、網羅的に腎障害マーカー候補を探索する最適な方法について、今後も検討を重ねていく。

## <引用文献>

AKI (急性腎障害) 診療ガイドライン 2016. *日腎会誌*. 2017. 59 : 419-533 .

Ichii O, Ohta H, Horino T, Nakamura T, Hosotani M, Mizoguchi T, Morishita K, Nakamura K, Hoshino Y, Takagi S, Sasaki N, Takiguchi M, Sato R, Oyamada K, Kon Y. Urinary exosome-derived microRNAs reflecting the changes of renal function and histopathology in dogs. *Sci Rep*. 2017. 7:40340. doi: 10.1038/srep40340.

Ichii O, Ohta H, Horino T, Nakamura T, Hosotani M, Mizoguchi T, Morishita K, Nakamura K, Sasaki N, Takiguchi M, Sato R, Oyamada K, Elewa YHA, Kon Y. Urinary Exosome-Derived microRNAs Reflecting the Changes in Renal Function in Cats. *Front Vet Sci*. 2018. 5:289. doi: 10.3389/fvets.2018.00289.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ichii O, Nakamura T, Irie T, Otani Y, Hosotani M, Masum MA, Islam RM, Horino T, Sunden Y, Elewa YHA, Kon Y.	4. 巻 153
2. 論文標題 Age-related glomerular lesions with albuminuria in male cotton rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histochem Cell Biol	6. 最初と最後の頁 27-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00418-019-01824-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Suzuki T, Ichii O, Nakamura T, Horino T, Elewa YHA, Kon Y.	4. 巻 379
2. 論文標題 Immune-associated renal disease found in caspase 3-deficient mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Tissue Res.	6. 最初と最後の頁 323-335
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00441-019-03084-w.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Ichii Osamu, Nakamura Teppei, Horino Taro, Yabuki Akira, Elewa Yaser H.A., Kon Yasuhiro	4. 巻 188
2. 論文標題 Abnormal Morphology of Distal Tubular Epithelial Cells Is Regulated by Genetic Factors Derived from Mouse Chromosome 12	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 2120 ~ 2138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajpath.2018.05.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ichii Osamu, Ohta Hiroshi, Horino Taro, Nakamura Teppei, Hosotani Marina, Mizoguchi Tatsuya, Morishita Keitaro, Nakamura Kensuke, Sasaki Noboru, Takiguchi Mitsuyoshi, Sato Ryo, Oyamada Kazuhisa, Yaser Hosny Ali Elewa, Kon Yasuhiro	4. 巻 5
2. 論文標題 Urinary Exosome-Derived microRNAs Reflecting the Changes in Renal Function in Cats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Veterinary Science	6. 最初と最後の頁 289
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fvets.2018.00289	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Masum Md. Abdul, Ichii Osamu, Elewa Yaser Hosny Ali, Kon Yasuhiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Podocyte Injury Through Interaction Between Tlr8 and Its Endogenous Ligand miR-21 in Obstructed and Its Collateral Kidney	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 606488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.606488	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Otani Yuki, Ichii Osamu, Masum Md. Abdul, Namba Takashi, Nakamura Teppei, Kon Yasuhiro	4. 巻 なし
2. 論文標題 Castrated autoimmune glomerulonephritis mouse model shows attenuated glomerular sclerosis with altered parietal epithelial cell phenotype	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Biology and Medicine	6. 最初と最後の頁 1.53537E+14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1535370221996010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Okamoto Mari, Ichii Osamu, Mie Keiichiro, Nishida Hidetaka, Akiyoshi Hideo	4. 巻 69
2. 論文標題 Altered clinicopathology and renal pathology in dogs treated with a clinical dose of cisplatin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Veterinary Research	6. 最初と最後の頁 109-124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 市居 修
2. 発表標題 走査型顕微鏡の応用的手法による腎病理評価
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第62回シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Osamu Ichii, Yaser Hosny Ali Elewa, Yasuhiro Kon
2. 発表標題 Application of virtual slide system to histological education in Hokkaido University
3. 学会等名 The 7th Congress of Asian Association of Veterinary Anatomists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 難波 貴志, 市居 修, 中村 鉄平, Yaser Hosny Ali Elewa, 昆 泰寛
2. 発表標題 自己免疫疾患モデルマウスで変化する腎臓内 Interleukin 1 family の発現バランス
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡本茉里, 市居 修, 三重慧一郎, 西田英高, 秋吉秀保
2. 発表標題 犬におけるシスプラチン投与による腎傷害と臨床病理学的パラメータの変動
3. 学会等名 第12回日本獣医腎泌尿器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 市居修、大田寛、堀野太郎、中村鉄平、細谷実里奈、溝口達也、森下啓太郎、中村健介、佐々木東、滝口満喜、佐藤遼、小山田和央、昆泰寛
2. 発表標題 ネコの尿中exosomeに含まれるマイクロRNAの解析
3. 学会等名 第11回日本獣医腎泌尿器学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市居修
2. 発表標題 新たな腎病態マーカー分子の発見と臨床獣医学への応用に関する研究
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市居修、中村鉄平、細谷実里奈、堀野太郎、Yaser Hosny Ali Elewa、昆泰寛
2. 発表標題 動物の尿路に出現するリンパ組織（Urinary tract-associated lymphoid tissue, UTALT）
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市居修
2. 発表標題 蛋白尿 糸球体の形態機能とその制御分子から
3. 学会等名 第15回日本獣医内科学アカデミー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 難波貴志、市居修、中村鉄平、大谷祐紀、Md. Abdul Masum、Yaser Hosny Ali Elewa、昆泰寛
2. 発表標題 自己免疫疾患モデルマウスの解析からみる腎臓内IL-36群の機能的棲み分け
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大谷祐紀、市居修、Md. Abdul Masum、難波貴志、昆泰寛
2. 発表標題 アンドロゲンは自己免疫性腎炎モデルマウスの糸球体硬化を増悪させる
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平松菜、市居修、難波貴志、大谷祐紀、Md. Abdul Masum、中村鉄平、Yaser Hosny Ali Elewa、昆泰寛
2. 発表標題 自己免疫疾患モデルマウスを用いた糖尿病性腎臓病の病態解明アプローチ
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Md. Abdul Masum、市居修、Yaser Hosny Ali Elewa、昆泰寛
2. 発表標題 Podocyte injury via Toll-like receptor 8 signaling in experimental obstructive nephropathy in mice
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 難波貴志、市居修、中村鉄平、大谷祐紀、Masum Md. Abdul、Yaser Hosny Ali Elewa、昆泰寛
2. 発表標題 加齢のInterleukin 36受容体欠損マウスで観察される上皮組織の形態異常
3. 学会等名 第1回日本獣医解剖アカデミア
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Namba, Osamu Ichii, Teppei Nakamura, Md. Abdul Masum, Yaser Hosny Ali Elewa, Yasuhiro Kon
2. 発表標題 Enhanced IL-36 expression in the kidneys of autoimmune disease-prone mice
3. 学会等名 The 8th Sapporo Summer Symposium for One Health (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuki Otani, Osamu Ichii, Yasuhiro Kon
2. 発表標題 Orchidectomized autoimmune disease model mouse shows ameliorated sclerotic lesion in the glomerulus
3. 学会等名 The 8th Sapporo Summer Symposium for One Health (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 日本獣医学会編 (昆泰寛、市居修他)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 学窓社	5. 総ページ数 416
3. 書名 獣医組織学第8版	

1. 著者名 日本獣医解剖学会編 (全体：小川和重ら編、解剖・腎臓：市居修)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 学窓社	5. 総ページ数 553
3. 書名 獣医解剖・組織・発生学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

北大・獣医・解剖学教室ホームページ  
<https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/anat/>  
 北大・獣医・解剖学教室ホームページ  
<https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/anat/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	昆 泰寛  (Kon Yasuhiro)  (10178402)	北海道大学・獣医学研究院・教授    (10101)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	エムディー アブドル マスム  (Md. Abdul Masum)		
研究協力者	岡本 菜里  (Okamoto Mari)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
エジプト		Zagazig University	
バングラデシュ		Sher-e-Bangla Agricultural University	