

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02690

研究課題名(和文) 進行期神経芽腫に対するKIRリガンド不一致臍帯血移植における分子学的基盤の解析

研究課題名(英文) Molecular basis for KIR ligand-mismatched cord blood transplantation for advanced neuroblastoma

研究代表者

高橋 義行 (Takahashi, Yoshiyuki)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：40432273

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,500,000円

研究成果の概要(和文)：神経芽腫患者由来腫瘍を用いた異種移植(Patient-derived Tumor Xenograft, PDX)モデルを確立でき、18例の神経芽腫患者の生検材料より5例でPDXライブラリを樹立できた。日本小児がん治療研究グループ(JCCG)の多施設前向き臨床研究(JN-H-20)が全国75施設以上の参加で実施され、登録する症例の初診時未治療生検検体よりPDXライブラリの樹立を行い、薬剤スクリーニングやがん免疫療法の有効性確認に利用できる基盤整備ができ、検体の収集を開始した。KIR2DL1単独陽性NK細胞が同種臍帯血移植後1年かけて徐々に増加して神経芽腫に効果を示すことを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで神経芽腫患者由来の腫瘍細胞を直接研究に使うことが困難であったが、異種移植(Patient-derived Tumor Xenograft, PDX)モデルを確立でき、18例の神経芽腫患者の生検材料より5例でPDXライブラリを樹立できた。さらに全国で進行期神経芽腫に対する前向き多施設共同研究(JN-H-20)に登録した患者よりPDXライブラリの樹立を行い、薬剤スクリーニングやがん免疫療法の有効性確認に利用できる基盤整備ができ検体の収集を開始できた。KIR2DL1単独陽性NK細胞が同種臍帯血移植後1年かけて徐々に増加して神経芽腫に効果を示すメカニズムを解明した。

研究成果の概要(英文)：We were able to establish a Patient-derived Tumor Xenograft (PDX) model using tumors derived from neuroblastoma patients, and established PDX libraries in 5 cases from 18 neuroblastoma patients. Our established PDX model is used in the multicenter prospective clinical study (JN-H-20) nationwide.

研究分野：血液腫瘍、小児科学

キーワード：神経芽腫 がん免疫 PDX

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究の着想に至った経緯

< 神経芽腫では自家移植においても KIR 依存性に生存率が改善する >

KIR 遺伝子と HLA 遺伝子が異なる染色体上にコードされているため、それぞれの遺伝子タイピングを行うと、ヒトでは、すべての NK 細胞が自己の HLA により抑制を受けてしまう群と、一部ではあるが、自己の HLA に抑制されない NK 細胞を持っている群に分けることが可能である。神経芽腫は NK 細胞に対する感受性が高い腫瘍であるため、NK 細胞に抑制シグナルをおこす HLA がレシピエントに存在せずに、ドナーに存在する場合をアロ反応性ドナーと定義し、Venstrom JM らは、ハイリスク神経芽腫において、KIR 不一致 NK 細胞を持つ患者群の方が持たない群よりも有意に生存率が改善することを報告し、神経芽腫において KIR 依存性に生存率が改善することが示された (*Clin Cancer Res.* 2009 1;15(23):7330-4) そこで患者細胞が発現する killer immunoglobulin-like receptor (KIR) リガンド (=HLA-A, B, C のサブグループ)が、いずれもドナー由来の NK 細胞が発現する KIR に抑制シグナルがはいらない KIR リガンド不一致ドナーを意図的に選択して、同種移植を行った場合に、移植後の患者体内のドナー由来 NK 細胞は、神経芽腫に対して GVT 効果を発揮して再発を抑制し、生存率が改善するという本研究の着想にいたった。倫理委員会の審査後に患者家族へ同意を取得して進行期神経芽腫に対して KIR リガンド不一致同種臍帯血移植を、標準治療のあとに非骨髄破壊性の化学療法を組み合わせたミニ移植によって、アロ反応性 NK 細胞を利用したがん免疫療法の臨床研究を行い、再発が有意に減少し、生存率が向上することを報告し、多施設共同研究を行い、その抗腫瘍メカニズムの解明を進める研究を行っている。

(2) 関連する国内外の研究動向と本研究の位置づけ

< 抗 GD2 モノクローナル抗体の開発と治療効果の限界 >

神経芽腫に対して、欧米では、がん免疫療法として GD2 抗原タンパクに対するモノクローナル抗体 (ch14.18) が承認されている。しかし、米国小児腫瘍研究グループ (COG) が行った臨床第 III 相無作為割り付け試験において、2 年無病生存率では抗 GD2 抗体投与群が非投与群に比べて 20% 以上有意に改善したが、その後のフォローアップにおける 4 年無病生存率では有意差がなくなってしまうことから、抗 GD2 抗体によるがん免疫療法だけでは、最終生存率の改善は不十分であり、欧米においても進行期神経芽腫の新規治療法が求められている。

名古屋大学医学部附属病院は、国際水準の臨床研究の実施に中心的な役割を担う「臨床研究中核病院」に認定されており、また文部科学省の「橋渡し研究加速ネットワークプログラム」にも選定され、トランスレーショナルリサーチを国際水準の臨床研究によって開発する機能を持ち、その成果が期待されている。さらに、平成 25 年 2 月に厚生労働省が全国 15 病院を選定した「小児がん拠点病院」に名古屋大学医学部附属病院が最高得点で選ばれており、小児がん拠点病院からの届け出患者数によれば、最も再発・難治進行期神経芽腫患者を診療している小児がん拠点病院である。当院は小児がんに対する先端医療臨床研究とその機序を解明する研究を行う最適の環境である。研究代表者の高橋は、進行期神経芽腫に対して KIR リガンド不一致同種臍帯血移植を、標準治療のあとに非骨髄破壊性の化学療法を組み合わせたミニ移植によって、アロ反応性 NK 細胞を利用したがん免疫療法のパイロット研究を行った結果について、2014 年国際神経芽腫学会 (ANR meeting 2014, ドイツ、ケルン)、日本小児血液がん学会 (2015 年、横浜) で報告

し、それぞれ Best presentation award in clinical science、プレナリー賞を受賞している。多施設に広げて臨床研究を開始しており、全国 8 つの施設が参加して、「小児 KIR リガンド不一致臍帯血移植研究会」を毎年、名古屋大学医学部において開催しており、本新規治療法を受ける進行神経芽腫の患者家族より同意を得て、腫瘍のゲノムコピー解析、末梢血による NK 細胞の解析等を行う準備は整っている。

研究分担者の門松は、2017 年より名古屋大学医学部の医学部長を務めており、これまで神経芽腫のマウスにおける発生モデルを用いて神経芽腫の発がんメカニズムの解析を報告してきた。研究代表者と共同して、「神経芽腫患者由来腫瘍を用いた異種移植モデルの作成」について研究実施中である。

研究分担者の上條は、埼玉がんセンター研究所所長として、全国における神経芽腫の中央分子診断を担っており、腫瘍における MYCN 遺伝子解析、DNA ploidy 解析、ゲノムコピー数のアレイ CGH 解析について解析可能である。

2．研究の目的

NK 細胞は T 細胞と異なり、事前に感作される必要がなく、ウイルス感染細胞や、腫瘍化した細胞に対してパーフォリンやグランザイムといった細胞傷害顆粒によって即時的に傷害する。そのため自己の細胞を傷害してしまわないように、NK 細胞には抑制性受容体が存在し、標的細胞がこのリガンドを発現していれば、自己として認識して傷害活性を示さないが、標的細胞にリガンドを発現していなければ傷害する「missing self 仮説」が広く受け入れられており、NK 細胞の抑制性 KIR に結合して、抑制シグナルをおこすリガンドが HLA クラス I (主に HLA-C) である。2002 年にイタリアの Ruggeri らが、NK 細胞が認識する MHC クラス I がドナーに存在するが、レシピエントに存在しない場合を「KIR リガンド不一致」と定義し、後方視的解析において、骨髄性白血病では KIR リガンド不一致ドナーにおいて、一致ドナーよりも有意に再発が減少し、生存率が改善することを報告した。Ruggeri らは、HLA 半合致移植で報告したが、この現象は急性リンパ性白血病では観察されず、またこれまで研究代表者らによる神経芽腫以外のがん、肉腫で報告はない。神経芽腫において、KIR リガンド不一致臍帯血移植における、NK 細胞分画の抗腫瘍メカニズムを解明することを目的とする。これまで神経芽腫患者由来の腫瘍細胞を直接にこのような抗腫瘍メカニズムの研究に使うことが困難であったため、神経芽腫患者由来腫瘍を用いた異種移植モデルの作成を目的とする。

3．研究の方法

研究期間は 3 年間とし、神経芽腫患者由来腫瘍を用いた異種移植モデルの作成の確立および進行神経芽腫の KIR 不一致 NK 細胞の抗腫瘍効果メカニズムを明らかにする。

< 神経芽腫患者由来腫瘍を用いた異種移植 (Patient-derived Tumor Xenograft, PDX モデルの作成) >

神経芽腫患者から採取された微少な腫瘍検体を超免疫不全マウス (NSG マウス) に移植して初代マウス (F0) を作成した。同時に腫瘍検体からゲノム DNA と RNA を抽出して遺伝子発現情報や遺伝子変異、染色体のコピー数などの遺伝情報を取得する。移植後に腫瘍体積の増大が確認されたマウスから腫瘍を摘出し、次世代のマウス (F1, F2, F3) を作成する。最終的に 3 回以上の継代を経て得られた腫瘍組織の遺伝情報を取得し、患者由来の腫瘍検体から得られた遺伝情報との

同一性を検証することで PDX モデルの樹立を確認する。

< KIR リガンド不一致 CBT を行った腫瘍の分子学的基盤の解析 >

神経芽腫の予後因子である染色体コピー数 (11qLOH, 1p loss など) をアレイ CGH および SNP アレイで解析する。MYCN 遺伝子の FISH (Fluorescence in situ Hybridization) 法による増幅判定、DNA 量を PI (Propidium Iodide) による核酸染色と、FACS による含有量解析によって DNA ploidy 解析などを行い、新規がん免疫療法の予後因子を解析する。

< GD2 を標的としたキメラ抗原受容体遺伝子導入 T 細胞 (CAR-T) の作成 >

非ウイルスベクターである piggyBac トランスポゾン法を用いた遺伝子導入技術により神経芽腫細胞表面に存在する GD2 を標的としたモノクローナル抗体を遺伝子導入してキメラ抗原受容体遺伝子導入 T 細胞 (CAR-T) を作成し、既存の神経芽腫細胞株に対する細胞傷害活性を確認する。

4 . 研究成果

(1) 神経芽腫患者由来腫瘍を用いた異種移植 (Patient-derived Tumor Xenograft, PDX モデル:平成 30 年度に確立できた PDX モデルを、臨床検体を用いて行った。神経芽腫患者から採取された微少な腫瘍検体を NSG マウスなどの超免疫不全マウスに移植して初代マウス (F0) を作成した。同時に腫瘍検体からゲノム DNA と RNA を抽出して遺伝子発現情報や遺伝子変異、染色体のコピー数などの遺伝情報を取得した。移植後に腫瘍体積の増大が確認されたマウスから腫瘍を摘出し、次世代のマウス (F1, F2, F3) を作成し、最終的に 3 回以上の継代を経て得られた腫瘍組織の遺伝情報を取得し、患者由来の腫瘍検体から得られた遺伝情報との同一性を検証することで PDX モデルの樹立を確認でき、18 例の神経芽腫患者の生検材料より 5 例で PDX ライブラリを樹立できた。

(2) KIR リガンド不一致 CBT を行う臨床研究からの PDX ライブラリ作成:日本小児がん治療研究グループ (JCCG) における多施設前向き臨床研究 (JN-H-20) は全国 75 施設以上の参加を予定しており、この試験に登録する症例の初診時未治療生検検体より PDX モデルの樹立を行い、薬剤スクリーニングや後述のがん免疫療法の有効性確認に利用する基盤整備ができ検体の収集を開始できた。

(3) KIR による NK サブセットを用いた in vitro における抗腫瘍効果の解析:KIR リガンド不一致 CBT において、KIR2DL1 単独陽性 NK 細胞が移植後 1 年かけて徐々に増加してドナーと同等の頻度に到達すること、KIR2DL1 単独陽性 NK 細胞が神経芽腫に傷害活性効果を示せた。

(4) GD2-CAR-T 細胞の作成と機能の検証:非ウイルスベクターである piggyBac トランスポゾン法を用いた遺伝子導入技術により神経芽腫細胞表面に存在する GD2 を標的としたモノクローナル抗体を遺伝子導入してキメラ抗原受容体遺伝子導入 T 細胞 (CAR-T) を作成し、既存の神経芽腫細胞株に対する細胞傷害活性を確認できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kato K, Miya F, Hamada N, Negishi Y, Narumi-Kishimoto Y, Ozawa H, Ito H, Hori I, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Kanemura Y, Kosaki K, Takahashi Y, Nagata KI, Saitoh S	4. 巻 56
2. 論文標題 MYCN de novo gain-of-function mutation in a patient with a novel megalencephaly syndrome.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Med Genet	6. 最初と最後の頁 388-395
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/jmedgenet-2018-105487	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 -
1. 著者名 Yoshida N, Sakaguchi H, Yabe M, Hasegawa D, Hama A, Hasegawa D, Kato M, Noguchi M, Terui K, Takahashi Y, Cho Y, Sato M, Koh K, Kakuda H, Shimada H, Hashii Y, Sato A, Kato K, Atsuta Y, Watanabe K; Pediatric Myelodysplastic Syndrome Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	4. 巻 S1083-8791
2. 論文標題 Clinical Outcomes after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Juvenile Myelomonocytic Leukemia: A Report from the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biol Blood Marrow Transplant	6. 最初と最後の頁 30835-3
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbmt.2019.11.029	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 -
1. 著者名 Miura H, Kawamura Y, Hattori F, Tanaka M, Kudo K, Ihira M, Yatsuya H, Takahashi Y, Kojima S, Sakaguchi H, Yoshida N, Hama A, Yoshikawa T	4. 巻 22
2. 論文標題 Human herpesvirus-6B infection in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients: Risk factors and encephalitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Transpl Infect Dis	6. 最初と最後の頁 e13203
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/tid.13203	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 -
1. 著者名 Suzuki T, Kawada JI, Nishikawa E, Torii Y, Horiba K, Takeuchi S, Okumura T, Muramatsu H, Takahashi Y, Ito Y	4. 巻 -
2. 論文標題 Association between graft source and response to live-attenuated vaccination in pediatric hematopoietic stem cell transplantation recipients: a single-center retrospective study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplant	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41409-020-0867-8	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 -

1. 著者名 Kobayashi R, Inoue M, Takahashi Y, Kikuta A, Ogawa A, Koga Y, Koh K, Hashii Y, Hara J, Kato K, Tabuchi K, Matsumoto K	4. 巻 -
2. 論文標題 Autologous Stem Cell Transplantation for Children With Renal Tumors, and Adults With Wilms Tumor: Retrospective Analysis of the Japanese Transplant Registry Unified Management Program.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Pediatr Hematol Oncol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPH.0000000000001779	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 -

1. 著者名 Kato Kohji, Miya Fuyuki, Hamada Nanako, Negishi Yutaka, Narumi-Kishimoto Yoko, Ozawa Hiroshi, Ito Hidenori, Hori Ikumi, Hattori Ayako, Okamoto Nobuhiko, Kato Mitsuhiro, Tsunoda Tatsuhiko, Kanemura Yonehiro, Kosaki Kenjiro, Takahashi Yoshiyuki, Nagata Koh-ichi, Saitoh Shinji	4. 巻 なし
2. 論文標題 MYCN de novo gain-of-function mutation in a patient with a novel megalencephaly syndrome	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Medical Genetics	6. 最初と最後の頁 jmedgenet-2018
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jmedgenet-2018-105487	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 -

1. 著者名 Hamada Motoharu, Nishio Nobuhiro, Okuno Yusuke, Suzuki Satoshi, Kawashima Nozomu, Muramatsu Hideki, Tsubota Shoma, Wilson Matthew H., Morita Daisuke, Kataoka Shinsuke, Ichikawa Daisuke, Murakami Norihiro, Taniguchi Rieko, Suzuki Kyogo, Kojima Daiei, Kojima Seiji, Nakazawa Yozo, Takahashi Yoshiyuki, et al	4. 巻 34
2. 論文標題 Integration Mapping of piggyBac-Mediated CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cells Analyzed by Novel Tagmentation-Assisted PCR	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 18~26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2018.07.008	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 -

1. 著者名 Murakami Norihiro, Okuno Yusuke, Yoshida Kenichi, Shiraishi Yuichi, Nagae Genta, Suzuki Kyogo, Narita Atsushi, Sakaguchi Hiroto, Kawashima Nozomu, Wang Xinan, Xu Yinyan, Chiba Kenichi, Tanaka Hiroko, Hama Asahito, Sanada Masashi, Kojima Seiji, Ogawa Seishi, Takahashi Yoshiyuki, Muramatsu Hideki, et al	4. 巻 131
2. 論文標題 Integrated molecular profiling of juvenile myelomonocytic leukemia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 1576~1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood-2017-07-798157	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 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 高橋義行
2. 発表標題 非ウイルスベクター法を用いたキメラ抗原受容体遺伝子導入T細胞（CAR-T 細胞）療法の現状と展望
3. 学会等名 第30回日本医学会総会2019中部
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋義行
2. 発表標題 転移性高リスク神経芽腫に対するがん免疫療法の最前線
3. 学会等名 第68回神奈川小児腫瘍研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiyuki Takahashi
2. 発表標題 PiggyBac transposon mediated gene modified T cell therapy for cost-effective therapeutic platform against cancer
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋義行
2. 発表標題 CAR-T細胞療法の基礎と臨床
3. 学会等名 第61回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiyuki Takahashi
2. 発表標題 Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy with non-virus vector system
3. 学会等名 Insights in Hematology conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋義行
2. 発表標題 がん治療の最前線 CAR-T細胞療法
3. 学会等名 第30回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋義行
2. 発表標題 急性リンパ性白血病に対する非ウイルスベクター法を用いたCAR-T細胞療法の開発
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kataoka S, Nishio N, Arakawa Y, Kakuda H, Kuroda H, Ito E, Hyakuna N, Kobayashi M, Takahashi Y.
2. 発表標題 KIR-ligand incompatible allogeneic cord blood transplantation for relapsed stage 4 neuroblastoma in a multicenter trial.
3. 学会等名 Advandces in Neuroblastoma Reseah Association (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片岡伸介, 西尾信博, 荒川ゆうき, 角田治美, 黒田啓史, 伊藤悦朗, 百名伸之, 小林正夫, 高橋義行
2. 発表標題 再発4期神経芽腫に対するKIRリガンド不一致同種臍帯血移植の多施設共同研究による治療成績
3. 学会等名 第10回血液疾患免疫療法学会学術集会 (SIHDS 2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nobuhiro Nishio, Shinsuke Kataoka, Shunsuke Miwata, Kotaro Narita, Hironobu Kitazawa, Motoharu Hamada, Daisuke Ichikawa, Rieko Taniguchi, Norihiro Murakami, Kyogo Suzuki, Nozomu Kawashima, Eri Nishikawa, Yusuke Okuno, Atsushi Narita, Hideki Muramatsu, Seiji Kojima, Yoshiyuki Takahashi.
2. 発表標題 骨髄MRDの消失は神経芽腫に対するKIRリガンド不一致同種臍帯血移植後の移植片対腫瘍効果を示唆する
3. 学会等名 第60回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshiyuki Takahashi.
2. 発表標題 Clinical trial of KIR-ligand incompatible allogeneic cord blood transplantation reduces relapse of bone marrow in children with primary high risk stage 4 neuroblastoma.
3. 学会等名 第41回造血細胞移植学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Narita, Shunsuke Miwata, Kotaro Narita, Hironobu Kitazawa, Shinsuke Kataoka, Motoharu Hamada, Rieko Taniguchi, Daisuke Ichikawa, Norihiro Murakami, Kyogo Suzuki, Eri Nishikawa, Nozomu Kawashima, Yusuke Okuno, Hideki Muramatsu, Nobuhiro Nishio, Seiji Kojima, Yoshinori Ito, Takahashi Yoshiyuki.
2. 発表標題 Evaluation of complication in cord blood transplantation from KIR ligand incompatible donor.
3. 学会等名 第41回造血細胞移植学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	門松 健治 (Kadomatsu Kenji) (80204519)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究 分担者	上條 岳彦 (Kamijo Takehiko) (90262708)	埼玉県立がんセンター(臨床腫瘍研究所)・臨床腫瘍研究 所・所長 (82402)	

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
---------	---------