

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 4 月 10 日現在

機関番号：82208

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09121

研究課題名(和文) Ca<sup>2+</sup>を標的とする骨肉腫の新規な治療法の基礎研究

研究課題名(英文) Targeting mitochondrial calcium as a novel approach for osteosarcoma treatment

研究代表者

鈴木 良弘 (Suzuki, Yoshihiro)

一般社団法人プラズマ化学生物学研究所・研究部・代表理事

研究者番号：80206549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：われわれは、がん細胞のカルシウムリモデリングの分子的基盤の解明とこれを標的とする治療剤の開発を目指している。がん細胞のカルシウムリモデリングとは、がん細胞では、その特異的な環境に対応するために、カルシウムイオンの調節機構が正常細胞のそれとは異なっていることをいう。本研究によりミトコンドリア内カルシウムの制御に關与するカルシウムユニポーターやナトリウム・カルシウム交換因子の変調が細胞死を誘発すること、この誘発が骨肉腫細胞では正常細胞より起こりやすいことがわかった。この成果は、これらの分子を標的とする副作用の少ない治療法(剤)の創出に繋がることが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の抗がん剤によるがん治療では重篤な副作用が治療の中断や中止の大きな要因の一つである。従って、副作用の少ないがん治療法(剤)の開発は医療問題として急務であるばかりではなく、患者の負担の軽減やQOLの向上によってがん患者の社会復帰による生産性の増加に直結している社会的にも大きな意義のある課題である。もう一つの問題である薬剤耐性に関しては、抗がん剤の多くがアポトーシスを標的としているために異なる細胞死の誘発が有効でそのための方策が求められている。さらに、本研究が対象としているミトコンドリアネットワークの制御は、多様な疾患の要因となっており臨床的にも重要な研究分野として注目されている。

研究成果の概要(英文)：We aim to elucidate the molecular basis of cancer calcium remodeling and develop drugs targeting malignancies' unique properties. Calcium remodeling in cancers represents alterations in the calcium regulatory machinery in cancers to adapt the unfavorable and stressful survival conditions. The present study revealed that mitochondrial calcium plays a crucial role in nonapoptotic cell death by controlling the mitochondrial network morphology. Specifically, the modulation of mitochondrial calcium uniporter and Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>+Li<sup>+</sup> exchanger, both critically involved in the control of mitochondrial calcium levels, led to caspase-independent cell death. Moreover, cancer cells were more susceptible than normal cells to the calcium-mediated cell death induction. These findings suggest that targeting these molecules can be exploited to induce nonapoptotic cell death and treat apoptosis-resistant cancers, including osteosarcoma.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：カルシウムリモデリング 骨肉腫 ミトコンドリア カルシウムユニポーター やナトリウム・カルシウム交換因子 腫瘍標的型治療 ミトコンドリアネットワーク 非アポトーシス細胞死

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

アポトーシス抵抗性がんにおける非アポトーシス細胞死の誘発はその治療戦略として有力であると期待されるが、これを効率的に誘発するための方策は確立されていない。従って、その確立は多剤耐性がんに対する画期的な治療法の提供に道を拓く。今日では、がん細胞の代謝メカニズムは正常細胞のそれに比べて大きく変化していることが広く知られている(代謝リモデリング)。この変化に対応して、代謝、増殖、生存に不可欠なカルシウムイオンとその制御機構も正常細胞のそれらと異なること(カルシウムリモデリング)も次第に明らかになってきている。ミトコンドリアは細胞内カルシウム調節の重要な制御オルガネラで、そのカルシウムハンドリングはエネルギー代謝に直結している。しかし、これまでがん細胞のカルシウム研究では抗がん剤のミトコンドリア内カルシウム動態に対する影響は注目されていなかった。われわれは、TRAIL(腫瘍壊死因子関連アポトーシス誘発リガンド)とその感作剤の併用が骨肉腫のミトコンドリア内カルシウム(MCA)の変調、ミトコンドリアネットワークの崩壊を起こし、アポトーシスだけでなく非アポトーシス細胞死を誘発することを発見した。さらに、単剤で骨肉腫に有効なプラズマ照射液はTRAILと感作剤の併用と同様の効果を示した。

## 2. 研究の目的

本研究では、MCAの変調が骨肉腫における非アポトーシス細胞死誘発の有効な手段となるか、なるとすればどのような制御分子を標的とし、どのような細胞を誘発するのが有効か、およびこの誘発にミトコンドリアネットワークの崩壊はどのように関与しているかを明らかにする。これらの知見を基にMCAを標的とした骨肉腫に対する新規な治療法の理論的基盤の確立を目指した。

## 3. 研究の方法

**細胞:** ヒト骨肉腫細胞株 HOS、SaOS-2、143B、MG63、ヒト骨芽細胞 hFOB、皮膚線維芽細胞 HDF、ヒト肺維芽細胞 WI-38 を用いた。**プラズマ照射液作製:** 誘電体バリア放電プラズマジェットで作製したヘリウムプラズマをソルデム 3A 1 mL あたりに 1 分照射して調製した。**細胞内 ROS の産生:** 細胞を処理後 ROS プロブ DCFH-DA で染色して FACSCalibur で測定した。**細胞生存率:** WST-8 アッセイで測定した。**アポトーシスおよび細胞膜統合性:** 細胞を Annexin-FITC ならびに 7-Amino-actinomycin D(7-AAD)で染色して FACSCalibur で測定し、CellQuest Pro ならびに Flowjo で定量化した。**カスパーゼ活性化:** NucView で染色し、Muse Cell Analyzer (メルクミリポア)で測定、解析した。**細胞質およびミトコンドリアカルシウム測定:** 細胞に Fluo-4-AM またはデヒドロ rhod-2-AM を負荷後、洗浄し、試薬を添加して直ちに excitation 480 nm emission 538 nm (Fluo4-AM の場合)および 542 nm 592 nm (デヒドロ rhod-2-AM の場合)それぞれで蛍光をマイクロプレートリーダーで測定した。**オートファジー測定:** cyto-ID で染色し、FACSCalibur で測定し、データを CellQuest Pro ならびに Flowjo で解析した。また、ウエスタンブロットにより LC3 I/II 発現、P62 のリン酸化(Ser351)ならびに mTOR 経路の分子のリン酸化を解析した。**ネクロトーシス解析:** ウエスタンブロットにより RIP1、RIP3 のリン酸化を解析した。**ミトコンドリアネットワークの生細胞イメージング:** 薬剤処理した細胞を洗浄後、ミトコンドリアと核を MitoTracker とヘキスト 33342 でそれぞれ染色した。ミトファジーの検討では、細胞を MitoTracker と cyto-ID で染色した。染色サンプルは生物顕微鏡 BZ X-700 (キーエンス)で TRITC、GFP および DAPI フィルターを用いて 100 倍油浸レンズで観察し BZ-H3A ソフトウェアで解析した。**統計:** 実験は 3 回以上行い、データは平均値 ± 標準偏差で表し、一元配置分散分析と Tukey 法で分析した。p < 0.05 を有意とした。

## 4. 研究成果

カルシウムシグナルはその強度、タイミング、持続時間ならびにその流れが占める空間に応じて細胞の生存に対して正、負の効果を示すことが知られている。短時間で同期したカルシウムウェーブはエネルギー産生、細胞機能、および生存に不可欠である(Elustondo et al., *J Bioenergy Biomembr* 2017)。一方、過剰で持続的な細胞内カルシウムの増加はミトコンドリア透過性の増大の引き金となり、ミトコンドリア機能不全、統合性の破綻ひいては細胞死の要因となる(Orrenius et al., *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007)。ミトコンドリアは小胞体と並んで細胞内カルシウム調節に重要な役割を果たす細胞内小器官であるが、がん細胞のカルシウムリモデリングにおける役割は不明な点が多い。本研究ではまず、骨肉腫細胞の定常的なMCA調節に関与する分子の同定を目的に、その主要な流入経路であるカルシウムユニporter (MCU)、流出経路であるミトコンドリア透過性遷移孔 (MPTP) ならびにミトコンドリアナトリウムカルシウムリチウム交換因子 (NCLX) の機能を抑制してMCAに対する効果を検討した。その結果、MCUの抑制によってMCAは減少し、NCLXの抑制によってMCAは上昇した。これに対してMPTPの

抑制はほとんど効果がなかった。一方、これらの抑制によって細胞質カルシウム(CCA)は影響されなかったことから、これらのMCAの変化はCCAの変動に伴うミトコンドリアのリザーバー機能によるMCA変動ではないことと考えられた。次にMCAの変動のTRAIL感受性に対する影響を検討した。NCLXの特異的阻害剤CGP-37157(CGP)ならびにMCUの阻害剤ルテニウム360(Ru360)はいずれもTRAIL抵抗性を著しく減少させ、細胞死を増強した。CGPによる増強はカスパーゼ-3/7活性化が先行し、Z-VAD-FMKで阻害され、アポトーシス誘発が示された。この結果は、MCAの過剰負荷によりチトクロームCやApaf-1の流出とそれによるカスパーゼ-3/7活性化を介するアポトーシスが誘発されるという広く認められている考え(Orrenius et al., *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007)と合致した。一方、Ru360による増強はZ-VAD-FMKでエンハンスされ、非アポトーシス細胞死が関与した。プラズマ照射液もその濃度によってMCAに二重効果を示すことが示された。すなわち、準毒性濃度ではMCAを増加させ、毒性濃度ではそれを減少させた。このMCAの低下は一部の骨肉腫ではCGPで完全に抑制されることから、NCLXを介するミトコンドリアからのカルシウム流出が関与すると推定された。ミトコンドリアへのカルシウム輸送は酸化的リン酸化によるATP産生に必須なので、MCAの低下はエネルギー産生障害に繋がるのが推測される。この考えと一致して、このような細胞ではプラズマ照射液によって主としてネクロトーシスが誘発され、アポトーシスは起こらなかった。以上の結果から、MCAの変動は、そのベクトルも正負に応じてアポトーシスならびに非アポトーシス細胞死の両方を誘発できると考えられる。さらに、非アポトーシス細胞死の誘発にはMCUによる小胞体からミトコンドリアへのカルシウム輸送の傷害が有効であることが示された。

最近、過去数十年間不明であったミトコンドリアのカルシウムハンドリングの分子マシナリーの全貌が明らかになってきた。小胞体からミトコンドリアへのカルシウム輸送を司るMCUの遺伝子のクローニングと解析が行われ、その分子の実体がチャンネル形成分子MCUおよび複数の成分から成る複合体であることが明らかにされた(De Stefani et al., *Biochim Biophys Acta*, 2015)。その結果現在では小胞体のイノシトール3リン酸受容体(IP3R)を介して遊離したカルシウムイオンはミトコンドリア外膜の電位差依存性アニオンチャンネル1(VDAC1)と内膜にあるMCUで形成されるIP3R-VDAC1-MCUという経路で外部に漏れることなく速やかにミトコンドリアに輸送されることが知られている。ストア依存性カルシウム流入(SOCE)は哺乳類細胞の主要な生理学的なカルシウム上昇の機構で、小胞体カルシウムの欠乏によって活性化されるストア依存性カルシウムチャンネルで媒介される。従って、この経路を介した小胞体カルシウムの減少はSOCEを活性化する。その一方で、SOCEがMCAに必要なことが報告されており(Deak et al., *J Cell Sci*, 2014)、MCAとSOCEは密接に機能的にリンクしていると考えられる。もしそうであれば、SOCEもMCA変調の有力な標的となるのではないかと考えられる。実際にわれわれは、TRAILとその感作剤の併用またはプラズマ照射液はSOCEを抑制することを見出した。今日SOCEはがんの生存に重要な意義を持ち治療標的となるカルシウム経路として注目されている(Jardin and Rosado, *Biochim Biophys Acta*, 2016)ことからMCUと同様にOrai1やStim1などの特異的阻害や遺伝子ノックダウンも非アポトーシス細胞死誘発の有力な方策となるかもしれない。

以前われわれは、プラズマ照射培地が腫瘍選択的にミトコンドリアネットワーク異常を誘発し、この異常が抗腫瘍活性に深く関与することを世界に先駆けて明らかにした(Saito et al., *Oncotarget*, 2016)興味深いことに、TRAILとその感作剤の併用やプラズマ照射液は極めて類似したミトコンドリアネットワークの異常を腫瘍選択的に誘発した。ミトコンドリアネットワーク異常は刺激の強度、持続時間に依りて融合、短縮化から断片化、膨化、ならびにクラスター形成と段階的に起り、クラスター形成が細胞死に不可欠であった。興味深いことに、MCAの変動はミトコンドリアネットワークに対してもそのベクトルに応じて正反対の二方向の反応を誘起した。すなわち、MCAの増加はミトコンドリア分裂を、MCAの減少はミトコンドリア融合を、それぞれ増加させた。この結果は、一定量のカルシウムレベルがミトコンドリアの分裂-融合サイクルの維持に必要であることを示唆する。本研究で、オートファジー阻害剤3-メチルアデニン、クロロキンが単剤で非アポトーシスを誘発し、TRAILによるアポトーシスを増強することを明らかにした(Onoe-Takahashi et al., *Int J Oncol*, 2019)。オートファジー阻害剤はTRAILの有無の相違でMCAを正負両方に制御した。すなわち、単剤ではMCAを増加させ、TRAILと併用するとMCAを減少させた。骨肉腫では栄養が十分でストレスがない状態でもオートファジーフラックスが検出され、その抑制によってTRAILによる細胞死が増強されたことから、この基礎的なオートファジーは細胞保護的に機能していると考えられた。注目すべきことに、細胞保護的なオートファジーが抑制される一方でミトファジーの増加が観察された(Ito et al., *Int J Oncol*, 2018)。ミトコンドリアの分裂は、GTPase活性を持つダイナミン関連タンパク質遺伝子群だけではなくミトコンドリアの膜電位の喪失でトリガーされるミトコンドリアの分解(ミトファジー)によってもおこることが知られている。実際に、オートファジー阻害剤単剤はミトコンドリアの融合を増加させたのに対して、TRAILとの併用ではミトコンドリアは分裂してクラスターを形成した。注目すべきことに、最近、同様のミトコンドリアネットワークの崩壊を起

こすプラズマ照射液がmTOR複合体キナーゼを活性化してオートファジーを抑制することを明らかにした(Ando et al., bioRxiv 2020; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.10.14.340208>)。これらの知見を考え合わせると、細胞死に関連するミトコンドリアネットワークの崩壊は、細胞のMCA、SOCE、およびオートファジーのレベルで制御され、TRAILに対する感受性の重要な調節因子となっていることが推測される。今後、このカルシウムならびにオートファジーによる制御の分子レベルの理解はこれからの課題である。ミトコンドリアネットワーク崩壊による細胞死とその制御は、神経変性疾患、がん、糖尿病等の多種多様な疾患の要因となることが明らかになったことから、基礎生物学のホットトピックスであるだけでなく、臨床的にも重要な研究分野として注目されている。TRAILによるアポトーシス誘発におけるミトコンドリアネットワークの役割はわれわれが世界に先駆けて見出しており(Akita et al., *Int J Oncol*, 2014; Suzuki-Karasaki et al., *Oncotarget*, 2015)、その分子レベルのメカニズムや腫瘍選択的細胞毒性との関連の解明によってこの分野を先導している。本研究の成果は、ミトコンドリアのネットワーク崩壊の細胞死誘発における役割について更なる実験的根拠を提示した。本研究によってMCAの変動は骨肉腫に非アポトーシス細胞死を誘発する有力な手段となること、MCUがその分子レベルの標的となること、ミトコンドリアネットワークの崩壊はこの細胞死の誘発に重要な役割を果たすことが明らかとなった。今後これらの知見に基づいてアポトーシスに耐性な骨肉腫に対する画期的な治療法(剤)が開発されることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Fujikawa I, Ando T, Suzuki-Karasaki M, Suzuki-Karasaki M, Ochiai T, Suzuki-Karasaki Y.	4. 巻 21
2. 論文標題 Aspirin Induces Mitochondrial Ca <sup>2+</sup> Remodeling in Tumor Cells via ROS-Depolarization-Voltage-Gated Ca <sup>2+</sup> Entry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4771
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21134771.	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 Nakagawa Chinatsu, Suzuki-Karasaki Manami, Suzuki-Karasaki Miki, Ochiai Toyoko, Suzuki-Karasaki Yoshihiro	4. 巻 21
2. 論文標題 The Mitochondrial Ca <sup>2+</sup> Overload via Voltage-Gated Ca <sup>2+</sup> Entry Contributes to an Anti-Melanoma Effect of Diallyl Trisulfide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 491
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21020491.	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 Fujikawa Itsuho, Ando Takashi, Suzuki-Karasaki Manami, Suzuki-Karasaki Miki, Ochiai Toyoko, Suzuki-Karasaki Yoshihiro	4. 巻 21
2. 論文標題 Aspirin Induces Mitochondrial Ca <sup>2+</sup> Remodeling in Tumor Cells via ROS-Depolarization-Voltage-Gated Ca <sup>2+</sup> Entry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4771
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21134771.	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 Chinatsu Nakagawa, Manami Suzuki-Karasaki, Miki Suzuki-Karasaki, Toyoko Ochiai, Yoshihiro Suzuki-Karasaki	4. 巻 21
2. 論文標題 The Mitochondrial Ca <sup>2+</sup> Overload via Voltage-Gated Ca <sup>2+</sup> Entry Contributes to an Anti-Melanoma Effect of Diallyl Trisulfide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 Eii 491-506
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21020491	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 Onoe-Takahashi A, Suzuki-Karasaki M, Suzuki-Karasaki M, Ochiai T, Suzuki-Karasaki Y.	4. 巻 54
2. 論文標題 Autophagy inhibitors regulate TRAIL sensitivity in human malignant cells by targeting the mitochondrial network and calcium dynamics.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 1734-1746
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2019.4760.	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 57.Ito T, Ando T, Suzuki-Karasaki M, Tokunaga T, Yoshida Y, Ochiai T, Tokuhashi Y, Suzuki-Karasaki Y.	4. 巻 53
2. 論文標題 Cold PSM, but not TRAIL, triggers autophagic cell death: A therapeutic advantage of PSM over TRAIL.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 503-514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4413.	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9件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Yoshihiro Suzuki-Karasaki, Manami Suzuki-Karasaki, Miki Suzuki-Karasaki, Toyoko Ochiai
2. 発表標題 The role of mitochondrial toxicity in tumor-selective toxicity
3. 学会等名 23rd International Symposium on Molecular Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshihiro Suzuki-Karasaki
2. 発表標題 Mitochondrial dynamics serve as a potential target for cancer control
3. 学会等名 Mini-Symposium: Advancement in Molecular Experimental Anticancer Regulation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshihiro Suzuki-Karasaki
2. 発表標題 Mitochondrial network collapse is an essential process in cancer cell death induction by cold plasma-activated liquids
3. 学会等名 24th World Congress on Advances in Oncology & 24th International Symposium on Molecular Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Manami Suzuki-Karasaki, Takashi Ando, Miki Suzuki-Karasaki, Toyoko Ochiai, Yoshihiro Suzuki-Karasaki
2. 発表標題 Cold atmospheric plasma irradiated liquid: a novel tumor-selective anticancer liquid advantageous over PAM
3. 学会等名 23rd International Symposium on Molecular Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Manami Suzuki-Karasaki, Takashi Ando, Miki Suzuki-Karasaki, Toyoko Ochiai, Yoshihiro Suzuki-Karasaki
2. 発表標題 Air plasma-activated medium induces an iron-dependent cell death in human malignant tumor cells
3. 学会等名 24th World Congress on Advances in Oncology & 24th International Symposium on Molecular Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki-Karasaki Y, Suzuki-Karasaki M, Suzuki-Karasaki M Ochiai T.
2. 発表標題 The role of mitochondrial calcium toxicity in tumor-selective toxicity.
3. 学会等名 23rd International Symposium on Molecular Medicine. 30 March 2019, Bangkok, Thailand. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki-Karasaki M, Ando T, Suzuki-Karasaki M, Ochiai T, Suzuki-Karasaki Y.
2. 発表標題 Cold atmospheric plasma irradiated liquid: a novel tumor-selective anticancer liquid advantageous over PAM.
3. 学会等名 23rd International Symposium on Molecular Medicine. 30 March 2019, Bangkok, Thailand. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki-Karasaki Y
2. 発表標題 Cold atmospheric plasma (CAP)-stimulated transfusion (PLAST): a novel CAP-based antitumor agent.
3. 学会等名 23rd World Congress on Advances in Oncology. 20 September 2018, Athens, Greece. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Suzuki-Karasaki M, Suzuki-Karasaki M, Miyahara H, Ochiai T, Suzuki-Karasaki Y.
2. 発表標題 Critical regulatory role of reactive oxygen/nitrogen species (RONS) in the antitumor activity of cold plasma-stimulated transfusion (PLAST).
3. 学会等名 23rd World Congress on Advances in Oncology. 20 September 2018, Athens, Greece. (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 抗癌剤の製造方法、抗癌剤及び医薬	発明者 鈴木良弘、鈴木美喜、落合豊子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/042538	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 抗癌剤の製造方法、抗癌剤および医薬	発明者 鈴木良弘、鈴木美喜、落合豊子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、666792	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔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	安藤 隆  (Ando Takashi)  (10377492)	山梨大学・大学院総合研究部・講師    (13501)	

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