

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：24601
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2018～2022
課題番号：18K09539
研究課題名（和文）口腔癌における反復配列RNAの発現と機能の解明

研究課題名（英文）repeated RNA

研究代表者

山本 一彦（Yamamoto, Kazuhiko）

奈良県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：20243842

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト口腔扁平上皮癌（OSCC）組織および細胞株、ならびに OSCC のマウスモデルにおける HOXA11-AS の発現と機能を解析し、HOXA11-AS を標的とすることはnicotinamide adenine dinucleotide (NAD)(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1)と dihydronicotinamide riboside (NRH): quinone oxidoreductase 2 (NQO2)を制御することにより高悪性度 OSCC を強力に抑制することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌においてupregulationされるoncogenic lncRNA は、診断マーカー、予後因子、さらには新規の治療分子標的となることが期待されている。HOXA11AS は、頭頸部がんにおいて制御不全をおこしている lncRNA の1つであり、ヒト口腔扁平上皮癌（OSCC）治療の新しい分子標的である可能性があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated HOXA11 AS expression and function in human oral squamous cell carcinoma (OSCC) tissues and cell lines, as well as a mouse model of OSCC, and showed that targeting HOXA11 AS may strongly suppress high grade OSCC by regulating both NQO1 and NQO2.

研究分野：口腔癌

キーワード：反復配列RNA 口腔癌

1. 研究開始当初の背景

口腔扁平上皮癌 (OSCC) 5 年生存率は約 60% であり、進行した段階では予後が不良である。OSCC は通常、プラチナ系抗がん剤 (シスプラチン、カルボプラチン) やタキサン系抗がん剤 (ドセタキセル、パクリタキセル) などの細胞傷害性抗がん剤で治療されるが、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤 (セツキシマブ) や、抗 programmed cell death-1 抗体 (ニボルマブおよびペムブロリズマブ) などの免疫チェックポイント阻害剤も使用可能である。しかし、高悪性度 OSCC の予後は依然として不良で、OSCC の新しい分子治療標的の同定が緊急の課題となっている。

ホメオボックス (HOX) 遺伝子は、胚の発生と発がん重要な役割を果たしている。ヒトでは 4 つのクラスターに 39 個の HOX 遺伝子があり、各クラスターには、HOXA11-AS アンチセンス RNA (HOXA11-AS など) などのいくつかの長い非コード RNA (lncRNA) を含む、タンパク質をコードしない多数の非コード RNA も含まれており、がんにおいて調節不全となっている。1628 bp の長さの HOXA11-AS 遺伝子は、悪性腫瘍の増殖と転移に關与する lncRNA を生成し、結腸癌の肝転移を促進することが報告されている。HOXA11-AS は、ポリコム抑制複合体-2、リジン特異的ヒストンメチラーゼ-1、および DNA メチルトランスフェラーゼ-1 のタンパク質足場として機能し、核内の染色体をエピジェネティックに修飾する RNA-タンパク質複合体を形成する。HOXA11-AS はまた、競合する内因性 RNA として miRNA をスポンジ化する。さらに、HOXA11-AS は EZH2 との作用を通じて遺伝子発現をエピジェネティックに制御する。

キノン酸化還元酵素ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD)(P)H: キノン酸化還元酵素 1 (NQO1) およびジヒドロニコチンアミドリボシド (NRH): キノン酸化還元酵素 2 (NQO2) はフラボタンパク質である。NQO1 は代謝解毒を触媒し、細胞を酸化還元サイクルや酸化ストレスから保護するが、NQO2 の機能は不明である。それらの補因子と基質の親和性も異なる。NQO1 は電子供与体として NAD(P)H を必要とするのに対し、NQO2 は NRH を必要とする。NQO1 は多くのがんで過剰発現し、発がん、薬剤耐性、がんの進行に關与している。対照的に、NQO2 の発現低下は、結腸直腸癌における肝転移と相関する。HOXA11-AS は転移を促進する NQO2 ダウンレギュレーションに關与している。しかし、HOXA11-AS が NQO2 の発現を制御するメカニズムは不明である。NQO1 と NQO2 は両方とも酸化ストレス関連遺伝子である。HOXA11-AS は NQO2 発現を抑制することが報告されているが、NQO1 発現における HOXA11-AS の役割は不明である。さらに、OSCC における HOXA11-AS と NQO の役割は依然としてよく理解されていない。

2. 研究の目的

OSCC における HOXA11-AS と NQO の役割と相互作用を解明し、治療標的としての可能性を模索する。

3. 研究の方法

(1) 手術標本

16 例の原発性 OSCC から -80 °C で凍結された新鮮な手術標本を用いた。腫瘍の病期は TNM 分類システムにて決定した。

(2) 細胞培養

ヒト舌扁平上皮癌細胞株 HSC3 および HSC4 を用い、450 mg/dL グルコースおよび 10% ウシ胎児血清を含むダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) 中で、5% CO₂ 雰囲気下、37 °C で維持した。

(3) 試薬

miR-494 模倣体および miR-494 阻害剤、ME 阻害剤、ランタニド、シスプラチン、NQO1 阻害剤、NQO2 阻害剤、ベータ NAD は供給業者から購入した。

(4) 細胞増殖、細胞浸潤およびアポトーシス

細胞増殖を評価するために、オートサイトメーターまたは MTS [3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-5-(3-カルボキシメトキシフェニル)-2-(4-スルホフェニル)-2H-テトラゾリウム]アッセイを使用して細胞数を測定した。MTS アッセイは、Celltiter 96 Aqueous One Solution 細胞増殖アッセイ キットを使用して実施した。細胞浸潤を評価するために創傷治癒アッセイを実施した。細胞遊走の面積は、デジタル撮影された画像を使用して測定した。アポトーシスは、Hoechst 33342 色素で染色した 1000 個の細胞を検査し、蛍光顕微鏡で観察することによって評価した。

(5) スフィア形成アッセイ

細胞 (1000 細胞/ウェル) を、コーティングされていない細菌用 35 mm ディッシュの 3D Tumorsphere Medium XF に播種した。7 日間の培養後、倒立顕微鏡を使用して球体の画像を取得した。キャプチャされた画像はコンピューターを使用して分析され、球の数は Image J ソフトウェアを使用してカウントした。

(6) 低分子干渉 RNA

ヒト HOXA11-AS、NQO1、および EZH2 をターゲットとする Stealth Select RNAi (siRNA) を購入した。AllStars Negative Control siRNA をコントロールとして使用した。リポフェクタミン 3000 を使用して、細胞に 10 nM siRNA をトランスフェクトした。

(7) 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR)

ReverTra Ace 定量的 PCR (qPCR) RT キットを使用して総 RNA を使用し cDNA を合成した。PCR 反応は製造元の指示に従って施行した。PCR 産物を 2%アガロースゲルで電気泳動し、臭化エチジウムを使用して視覚化した。プライマーは Sigma-Aldrich によって合成された。

(8) lncRNA の qRT-PCR

全細胞 RNA は、TRIzol 試薬を使用して初代 OSCC 組織から単離され、製造元の指示に従って、Prime Script RT 試薬キットと gDNA Eraser を使用して逆転写された。HOXA11-AS 発現は、SYBR Green PCR キットを使用して反応を 3 回実行し、qRT-PCR を使用して分析した。グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) mRNA を内部対照として使用した。

(9) miRNA の検出

メーカーのプロトコールに従って、mirVanaTM miRNA 単離キットを使用して miRNA を抽出した。miRNA 発現レベルを定量するために、TaqMan miRNA 逆転写キットおよび Pri-miRNA アッセイキットを使用して RT-PCR を実行した。

(10) タンパク質の抽出

全細胞溶解物を調製するために、細胞を冷 PBS で 2 回洗浄し、回収しました。細胞は、0.1% NP-40 を添加した RIPA バッファーで溶解した。タンパク質アッセイは、Protein Assay Rapid Kit を使用して実施した。

(11) 乳酸、NAD、FAD 濃度と NQO1 および GAPDH の活性の測定

乳酸、NAD、および FAD の濃度は、D-乳酸アッセイキット、NAD/NADH アッセイキット、および FAD ELISA キット、NQO1 および GAPDH の活性は、それぞれ NQO1 および GAPDH 活性アッセイキットを使用して測定した。

(12) クロマチン免疫沈降アッセイ

クロマチン免疫沈降アッセイは、市販のキット を使用して HSC3 細胞で実施した。1% ホルムアルデヒドで 37 °C で 10 分間架橋した後、細胞をドデシル硫酸ナトリウム溶解緩衝液で回収し、超音波処理によって DNA を 500 bp の断片に断片化した。事前に除去されたクロマチンを、EZH2、H3K27me3、または非特異的 IgG に対する抗体とともに一晩インキュベートした。プロテイン G-アガロースビーズを添加し、4 °C で 1 時間インキュベートした。架橋を逆転させた後、DNA を単離し、PCR に使用した。

(13) 動物モデル

雄の 5 週齢 BALB/c ノードマウスを用い、皮下腫瘍モデルとしてハンクス平衡塩類溶液に懸濁した HSC3 および HSC4 細胞 (1×10^7 細胞) をマウスの肩甲骨皮下組織に接種した。4 週目に腫瘍を切除した。肺転移モデルとしてハンクス平衡塩類溶液に懸濁した HSC3 および HSC4 細胞 (1×10^6 細胞) を尾静脈に接種した。4 週目に肺を切除した。腫瘍治療のために、ランタニド (200 μ L 中 0.5 μ mol/kg 体重) または HOXA11-AS siRNA を 1 日目、3 日目、および 1 日目に腹腔内注射した。

(14) 統計分析

統計的有意性は、コルモゴロフおよびスミルノフ法によるガウス分布を仮定したスチューデントの t 検定、またはウェルチ補正を伴う対応のない t 検定を使用して評価した。回帰分析は、ガウス分布を仮定したピアソンの r 分析を使用して実行した。分析は、InStat ソフトウェアを使用した。生存曲線は、Kaplan-Meier モデルを使用して計算した。生存時間の差は、Cox 比例ハザード モデルを使用して計算した。統計的有意性は $p < 0.05$ とした。

4. 研究成果

(1) ヒト口腔扁平上皮癌 (OSCC)における HOXA11-AS および NQO の発現

16 例の OSCC 組織における HOXA11-AS と NQO の発現を調べた。HOXA11-AS 発現は、NQO1 発現と同様にリンパ節転移の程度と相関したが、NQO2 レベルは逆相関を示した。リンパ節転移陰性例(pN0)と陽性例(pN1-3)における NQO1、NQO2、HOXA11-AS の発現を比較すると、いずれも有意な差が認められた。回帰分析の結果、NQO1 と HOXA11-AS 発現の間に正の相関関係があるのに対し、NQO2 は HOXA11-AS 発現と逆相関することが示された。

(2) ヒト OSCC 細胞株における NQO1 活性化における HOXA11-AS の役割

ヒト OSCC 細胞株 HSC3 (転移性が高い) および HSC4 (転移性が低い) における HOXA11-AS と NQO の発現を測定した。HSC4 細胞と比較して HSC3 では HOXA11-AS および NQO1 の発現が高いが、NQO2 の発現が低いことが観察された。siRNA を使用して HSC3 細胞で HOXA11-AS をノックダウンすると、NQO1 発現は siControl (siC) 細胞の 25% に減少したが、NQO2 発現は 2.5 倍増加した。

HOXA11-AS が NQO1 を upregulation する能力は、microRNA スポンジとしての役割によるものではないかと推測し、HSC3 細胞における HOXA11-AS のノックダウンが、これまでに NQO1 を upregulation する報告されている 9 種類の miRNA の発現に及ぼす影響を調べた。その結果は、HOXA11-AS ノックダウンによって miR-494 発現のみが増強されることが示された。HSC3

細胞で miR-494 をノックダウンすると、NQ01 発現は増加したが、NQ02 発現は変化しませんでした。NQ01 活性に対する miR-494 の効果を調べたところ、miR-494 mimic が NQ01 活性を低下させるのに対し、miR-494 inhibitor はその活性を増加させることが観察された。さらに、NQ01 活性は、HOXA11-AS ノックダウン単独では低下したが、HOXA11-AS ノックダウンを miR-494 inhibitor と組み合わせると増強された。

(3) ヒト OSCC 細胞株における NQ02 抑制における HOXA11-AS の役割

HOXA11-AS による NQ02 発現の抑制は EZH2 を介したエピジェネティックメカニズムによる可能性があると考え、HSC3 細胞における EZH2 ノックダウンの効果を調べた。EZH2 ノックダウンは NQ02 発現を促進したが、NQ01 発現は変化しなかった。さらに、EZH2 およびトリメチル化 H3K27 の NQ02 プロモーター DNA への結合は、HOXA11-AS ノックダウンによって減少した。まとめると、我々の分析は、miR-494 の HOXA11-AS スポンジングが NQ01 発現を upregulation するのに対し、NQ02 発現は HOXA11-AS による NQ02 遺伝子プロモーターの EZH2 阻害と H3K27 トリメチル化によって抑制されることを示した。

(4) OSCC 細胞の malignant phenotype に対する HOXA11-AS の効果

OSCC 細胞の malignant phenotype に対する HOXA11-AS の効果を調べるために、HSC3 および HSC4 細胞で HOXA11-AS をノックダウンした。HOXA11-AS ノックダウンにより、HSC3 細胞では細胞増殖と浸潤能力がより顕著に減少した。アポトーシスは両方の細胞型で増加したが、スフェア形成能力は HOXA11-AS のノックダウンによって減少した。両方のアッセイにおける変化は、HSC4 細胞と比較して HSC3 でより大きかった。さらに、CDDP に対する感受性を調べたところ、両方の細胞で感受性が向上した。

(5) OSCC 細胞株における NQ01 の役割

NQ01 は酵素反応に FAD を必要とする。細胞質内の FAD 濃度は、NQ01 ノックダウンとともに増加した。対照的に、NQ01 ノックダウンは、反応に FAD を必要とするサイトゾル解糖酵素である GAPDH の活性を増加させた。解糖活性を示す細胞外乳酸が増加した。グルタミン分解（乳酸発酵の代替経路）に関与する酵素である malic enzyme (ME)-1 の発現は、NQ01 ノックダウン後に 38% 減少した。NQ01 活性は ME1 発現の促進を通じて解糖を阻害し、グルタミン分解を増強することが示されている。HSC3 および HSC4 細胞を ME1 阻害性 lanthanide で処理した場合、FAD 濃度と GAPDH 活性に変化は見られなかったが、細胞外乳酸濃度は ME1 抑制に伴って減少した。

また、HOXA11-AS によって促進される malignant phenotype の調節における NQ01 と ME1 の役割も調べた。細胞増殖、浸潤能力、アポトーシス生存能力、スフェア形成能力、幹細胞マーカー CD44 および NS の発現はすべて、NQ01 ノックダウンと ME1 阻害の両方によって抑制された。抑制の程度は、ME1 阻害の存在下でより顕著であった。まとめると、これらの結果は、HOXA11-AS-NQ01 軸による悪性表現型の促進がグルタミン分解の影響を受けていることを示唆した。

(6) OSCC 細胞株における NQ02 の役割

NQ02 の作用を調べるために、OSCC 細胞を HOXA11-AS siRNA、NQ01 阻害剤（ジクマロール）、または NQ02 阻害剤（S29434）と HOXA11-AS siRNA で処理した（HOXA11-AS ノックダウンによって upregulation される NQ02 活性を阻害するため）。我々の分析により、HOXA11-AS ノックダウンと NQ01 阻害は同様の細胞増殖抑制をもたらしたが、HOXA11-AS ノックダウン + NQ02 阻害では軽度の増殖抑制のみが生じたことが示された。細胞内 NAD 濃度は、HOXA11-AS ノックダウンおよび HOXA11-AS ノックダウン + NQ02 阻害に反応して減少したが、NQ01 阻害剤の存在下ではほとんど変化がみられなかった。HOXA11-AS ノックダウンと NQ01 阻害は浸潤を同程度に抑制した。ただし、HOXA11-AS ノックダウン + NQ02 阻害により、浸潤がより穏やかに抑制された。対照的に、アポトーシスは HOXA11-AS ノックダウンおよび HOXA11-AS ノックダウン + NQ02 阻害によって増加したが、NQ01 阻害による程度はより低かった。さらに、HOXA11-AS ノックダウンおよび HOXA11-AS ノックダウン + NQ02 阻害は細胞のスフェア形成能力を低下させたが、この腫瘍特性は NQ01 阻害によってわずかに減少するだけであった。スフェア形成能力の低下は、NAD の添加により回復した。これらの発見は、NQ01 過剰発現が HOXA11-AS 媒介細胞増殖と浸潤に関与する主な因子である一方、NQ02 抑制が幹細胞性特性の増強に関与していることを示唆した。さらに、我々のデータは、NQ02 発現の減少に起因する NAD レベルの増加がステムネスの特徴の促進に関与していることも示唆した。

(7) OSCC に対する HOXA11-AS 治療の効果

HOXA11-AS の治療標的としての可能性を調べるためにマウスモデルで実験を行った。高転移性 HSC3 皮下腫瘍モデルでは、HOXA11-AS ノックダウンは、NQ01 の推定メディエーターである ME1 の lanthanide 阻害よりも 25% 多く腫瘍増殖を阻害した。対照的に、低レベルの HOXA11-AS を発現する低転移性 HSC4 株では、HOXA11-AS ノックダウンは lanthanide よりも腫瘍増殖を 11% 増加させるだけであった。マウスの生存に対する治療の効果を比較したところ、lanthanide 治療は対照群と比較して、HSC3 腫瘍を有するマウスの平均生存期間を 2 日延長し

ただけであるのに対し、HOXA11-AS ノックダウン グループは平均生存期間を 7 週間にわたって 12 日延長を示したことが観察された。実験終了時点でマウスの 60% がまだ生存していたが、対照群とランタニド群では 0% であった。対照的に、HSC4 腫瘍を有するマウスでは、HOXA11-AS ノックダウン グループと lanthanide グループの両方が対照グループと比較して生存率の向上を示したが、それらの間に有意差はみられなかった。尾静脈接種により誘発された肺転移モデルでは、HSC4 腫瘍を有するマウスは、lanthanide 群では 7%、HOXA11-AS ノックダウン群では 22% の肺重量の減少を示した。対照的に、HSC3 転移のあるマウスでは、lanthanide 群では 29%、ノックダウン群では 81% の肺重量の減少が見られた。HSC3 腫瘍を有するマウスの NAD 濃度は、lanthanide 治療後に 17% 減少しましたが、HOXA11-AS ノックダウンでは 79% の減少が観察された。さらに、乳酸濃度は lanthanide 群とノックダウン群でそれぞれ 47% と 60% 減少した。したがって、HSC3 腫瘍(高レベルの HOXA11-AS を発現する)を有するマウスは、HOXA11-AS 発現が低い HSC4 腫瘍を有するマウスよりも、腫瘍増殖と転移の両方に関して HOXA11-AS ノックダウンによる影響が大きかった。さらに、lanthanide 媒介による NQO1 単独の抑制と比較して、HOXA11-AS ノックダウンによる NQO1 と NQO2 の両方の阻害は腫瘍の増殖と転移の抑制を顕著に強化し、特に後者で強い効果があった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakashima C, Fujiwara-Tani R, Mori S, Kishi S, Ohmori H, Fujii K, Mori T, Miyagawa Y, Yamamoto K, Kirita T, Lou Y, Kuniyasu H	4. 巻 23
2. 論文標題 An axis between the long non-coding RNA HOXA11-AS and NQOs enhances metastatic ability in oral squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 10704
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms231810704	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 -

1. 著者名 Nakashima C, Kirita T, Yamamoto K, Mori S, Luo Y, Sasaki T, Fujii K, Ohmori H, Kawahara I, Mori T, Goto K, Kishi S, Fujiwara-Tani R, Kuniyasu H	4. 巻 21
2. 論文標題 Malic enzyme 1 is associated with tumor budding in oral squamous cell carcinomas.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 E7149
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21197149	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 Nakashima C, Yamamoto K, Kishi S, Sasaki T, Ohmori H, Fujiwara-Tani R, Mori S, Kawahara I, Nishiguchi Y, Mori T, Kondoh M, Luo Y, Kirita T, Kuniyasu H	4. 巻 11
2. 論文標題 Clostridium perfringens enterotoxin induced claudin-4 to activate YAP in oral squamous cell carcinomas.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 309-321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.27424. eCollection 2020 Jan 28.	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8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中嶋千恵、山本一彦、山川延宏、柳生貴裕、上田順宏、國安弘基、桐田忠昭
2. 発表標題 ME1は低酸素にある口腔扁平上皮癌においてbuddingと関わる
3. 学会等名 第60回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中嶋千恵、谷 里奈、岸 真五、森 汐莉、山本一彦、桐田忠昭、國安弘基
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌においてME1はbuddingと関わる.
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中嶋千恵、谷里奈、岸真五、森汐莉、山本一彦、桐田忠昭、國安弘基
2. 発表標題 Malic enzyme 1 は口腔扁平上皮癌における腫瘍のbuddingと関連する
3. 学会等名 第111回日本病理学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松末友美子、山本一彦、松吉ひろ子、谷岡剛史、佐藤英俊、桐田忠昭
2. 発表標題 ラマン分光法を用いた新たな早期口腔癌診断システムの開発
3. 学会等名 第74回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松末友美子、山本一彦、松吉ひろ子、谷岡剛史、佐藤英俊、桐田忠昭
2. 発表標題 ラマン分光法を用いた新たな早期口腔癌診断システムの開発
3. 学会等名 第65回日本口腔外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中嶋千恵、山本一彦、岸 真五、佐々木隆光、大森 斉、谷 里奈、森 汐莉、藤井 澄、西口由希子、近藤昌夫、桐田忠昭、國安弘基
2. 発表標題 CPEは口腔扁平上皮癌のYAPを活性化する
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中嶋千恵、山本一彦、谷 里奈、パワール・ウジャール、笹平智則、桐田忠昭、國安弘基
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるME1発現と腫瘍促進の関係
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会，2018年9月27～29日，大阪
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中嶋千恵、山本一彦、谷 里奈、パワールウジャール、笹平智則、桐田忠昭、國安弘基
2. 発表標題 口腔衛生評価に有用な口腔腫瘍モデルの作製
3. 学会等名 第107回日本病理学会，2018年 6月21日～23日，札幌
4. 発表年 2018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	國安 弘基 (Kuniyasu Hiroki) (00253055)	奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601)	

6. 研究組織（つづき）

	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	桐田 忠昭 (Klrita Tadaaki) (70201465)	奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601)	

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