

平成 23 年 3 月 31 日現在

機関番号：27301  
研究種目：基盤研究(C)  
研究期間：2008～2010  
課題番号：20590545  
研究課題名(和文) 原発性胆汁性肝硬変の発症や病態の分子機構の解明と重症度予測遺伝子診断法の開発  
研究課題名(英文) Identification of primary biliary cirrhosis-susceptibility genes to the progression and its application to DNA-based diagnosis  
研究代表者  
大曲 勝久 (OMAGARI KATSUHISA)  
長崎県立大学・看護栄養学部・教授  
研究者番号：90244045

## 研究成果の概要 (和文)：

333 名の原発性胆汁性肝硬変(PBC)患者を進行群と非進行群、あるいは重症化群と非重症化群に分け、その両群間で候補遺伝子(胆汁酸のホメオスタシスに関わる遺伝子や正常の胆管形成に関わる遺伝子)の一塩基多型の出現頻度を比較する相関解析を行うことで、PBCの重症化関連遺伝子の同定を試みた。計26個の候補遺伝子内に存在する109個の一塩基多型を解析した。肝硬変への進行に関与する遺伝子として *CYP7A1*, *CYP8B1*, *HNF4A*, *PPARGC1A*, *RXR*B, *ASBT* および *ABCG8* を同定した。また、最も重症で黄疸を伴う肝不全への進行に関与する遺伝子として *CYP7A1*, *PPARGC1A*, *RXR*B, *FGF19*, *MDR3*, *ABCG8* および *ITGAV* を同定した。

次に、有意な相関を認めた遺伝子多型をバイオマーカーとして用い、重症化を予測できる遺伝子診断法の開発を試みた。検査法として感度・特異度・陽性的中率・オッズ比および *P* 値のバランスが最も良かったバイオマーカーの組合せは、肝硬変進行の予測には「*CYP8B1* + *PPARGC1A*」が、肝不全進行の予測には「*CYP7A1* + *PPARGC1A* + *ABCG8* + *ITGAV*」が有用であった。

## 研究成果の概要 (英文)：

Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic and slowly progressing autoimmune liver disease characterized histopathologically by inflammation and destruction of the intrahepatic small bile ducts, thus resulting in cholestasis and thereby leading to hepatic damage, cirrhosis, and eventually hepatic failure. Although the precise etiology of PBC remains unknown, both several environmental factors and multiple genetic factors may contribute to the pathogenesis as well as progression of PBC. As we focused on 26 candidate genes related with the homeostasis of bile acid and normal bile duct formation, a candidate gene-based association study on susceptibility to the progression of PBC was carried out using 109 single nucleotide polymorphisms in the 26 candidate genes for 333 Japanese PBC patients.

Chi-square test or Fisher's exact test revealed that the 7 genes, *CYP7A1*, *CYP8B1*, *HNF4A*, *PPARGC1A*, *RXR*B, *ASBT*, and *ABCG8*, were associated with susceptibility to the progression to cirrhosis, and that the 6 genes, *CYP7A1*, *PPARGC1A*, *RXR*B, *FGF19*, *MDR3*, *ABCG8*, and *ITGAV*, appeared to be susceptible to severe progression to hepatic failure with jaundice. Furthermore, a combination of polymorphisms of *CYP8B1* and *PPARGC1A* is a

useful biomarker for identifying high-risk PBC patients for progression to cirrhosis. Likewise, a combination of polymorphisms of *CYP7A1*, *PPARGC1A*, *ABCG8*, and *ITGAV* is useful as the best biomarker for severe progression to hepatic failure with jaundice.

交付額	(金額単位：円)		
	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学  
 科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学  
 キーワード：ファーマコゲノミクス

### 1. 研究開始当初の背景

原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis: PBC) は、慢性非化膿性破壊性胆管炎による胆管減少とそれに伴う胆汁うっ滞を特徴とする慢性肝疾患である。PBC の主な病因は自己免疫疾患とされているにも関わらず、免疫抑制剤やステロイドは無効である。PBC 患者の多くが治療薬ウルソデオキシコール酸 (UDCA) によく反応する一方で、一部の患者では 10-20 年かけて病態が進行し重症化する。全体では、約 3 割の患者が重症化して肝硬変に至る。さらに重症化する患者の一部 (全体の約 1 割) は、急激に胆管が減少して 5 年以内に黄疸を伴う肝不全へと進行する。この様に PBC 患者間で臨床病態、重症度および長期予後に個人差を認め、この個人差に遺伝因子の関与が示唆されている。患者の予後を左右するこれらの遺伝因子の同定は PBC の病態解明において重要である。

現在までに多くの遺伝子多型と PBC の発症 (疾患感受性) との相関が報告されている。一方で、PBC の進行に関与する遺伝子多型の報告は少なく、その遺伝子の殆どは免疫システムに関わるものであった。しかし、PBC の治療において免疫抑制剤やステロイドが無効で、胆汁酸である UDCA が治療効果を示すことから、PBC の重症化に免疫系以外の機序が寄与していることが推察される。

PBC 患者では肝臓内胆管の減少により肝細胞内に過剰に蓄積した胆汁酸が肝毒性を示していることから、胆汁酸ホメオスタシスを司る分子、特に胆汁酸代謝酵素は PBC の重症化に重要な役割を担っていると考えた。

また、細胞表面レセプターである integrin  $\alpha\beta6$  が transforming growth factor  $\beta1$  の活性化を介して肝線維化を促進していることや、形態形成因子 epimorphin が integrin  $\alpha\beta1$  を介して正常な胆管形成を制御していることから、integrin  $\alpha\gamma$  鎖をコードする *ITGAV* 遺伝子も PBC の重症化に重要な役割を担っていると考えた。

よって本研究では、胆汁酸ホメオスタシスに関わる遺伝子や正常な胆管形成に関わる遺伝子の多型が、PBC の重症化に関与していると仮説を立ててその検証を行った。

### 2. 研究の目的

本研究では、一塩基多型 (single nucleotide polymorphisms: SNPs) を用いた候補遺伝子アプローチ法による相関解析によって、PBC の重症化に関わる遺伝子を同定することを目的とした。次に、有意な相関を認めた遺伝子多型をバイオマーカーとして用い、重症化を予測できる遺伝子診断法の開発も試みた。

### 3. 研究の方法

(1) 国立病院機構肝臓病研究班の PBC コホート研究に登録された日本人 PBC 患者 333 名を対象とした。登録時に、文書によるインフォームド・コンセントを行い、各被験者から同意を得た後、試料 (血液) を採取した。同研究はヒトゲノム・遺伝子解析倫理委員会の承認を得ている。全ての患者試料と情報は情報管理者を介して匿名化した。

(2) 国際基準に従い、①血清抗ミトコンドリア抗体の陽性、②肝胆道系酵素の上昇、③肝生検の組織学的所見(Scheuer 分類)を満たした者をPBCと診断した。自己免疫性肝炎の治療のためにプレドニゾン(>5 mg/day)を投与されている患者、急性肝炎、B型慢性肝炎、C型慢性肝炎、アルコール性肝炎などの肝疾患を合併している患者は除外した。

(3) PBC患者を病理所見(Scherer 分類)と臨床症状から次の3つの病期に分類した。肝生検の病理所見がScheuer分類のstage 1またはstage 2であるか、病理所見が不明であっても門脈圧亢進や肝硬変による臨床症状がない患者をclinical stage Iとした。Scheuer分類のstage 3またはstage 4であるか、門脈圧亢進や肝硬変による臨床症状を呈する患者(但し、血清総ビリルビン< 2 mg/dLであり、黄疸を伴わない)をclinical stage IIとした。Scheuer分類がいずれのステージであっても黄疸を伴う(血清総ビリルビン $\geq$  2 mg/dL)患者をclinical stage IIIとした。

(4) 本研究では、病態の進行や重症度および予後に焦点を当て、以下の2種類の基準を用いて、PBC患者の臨床病期を再分類した。まず、長期にわたって病態が殆ど進行せずに良好な予後を示す病態に着目して、clinical stage Iの患者をearly stageに、clinical stage IIとIIIの患者をlate stageに再分類した。また、極めて重篤な肝不全へ進行して肝移植の適応となる病態に着目して、clinical stage IIIの患者をjaundice stageに、clinical stage IとIIの患者をnon-jaundice stageに再分類した。

(5) PBC患者の末梢血からNucleoSpin BloodL Kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany)を用いてゲノムDNAを抽出した。

(6) 本研究では、胆汁酸の合成や合成促進に関わる5つの遺伝子(*CYP7A1*, *CYP8B1*, *CYP27A1*, *HNF4A*, *PPARGC1A*)、過剰な胆汁酸に反応して合成を抑制する8つの遺伝子(*FXR*, *RXR $\beta$* , *SHP*, *FGF19*, *FGFR4*, *KLB*, *FOXO1*, *GPS2*)、胆汁酸の血流への排泄に関わる5つの遺伝子(*PXR*, *OSTA*, *OSTB*, *MRP3*, *MRP4*)、胆汁酸の解毒抱合に関わる2つの遺伝子(*BAAT*, *UGT1A1*)、胆汁酸の胆管への排泄に関わる4つの遺伝子(*BSEP*, *MDR3*, *ABCG5*, *ABCG8*)、胆汁酸の腸肝循環に関わる1つの遺伝子(*ASBT*)、および正常な胆管形成や線維化に関わる1つの遺伝子(*ITGAV*)を候補遺伝子とした。

International HapMap databaseから候補遺伝子内に存在する全てのSNPsを抽出し、Haploviewソフトウェアを用いて多型解析を行うtag SNPsを選出した。また、遺伝子の

機能に影響を与えると既に報告されているSNPsも解析対象のtag SNPsとした。本研究では26個の候補遺伝子に対して109個のtag SNPsを解析した。

(7) 各SNPの多型部位を挟むようにPCR用のprimer pairsを設計してPCRにより増幅した。各SNPの遺伝子型の決定には、PCR-制限酵素断片長多型法、PCR-直接DNAシーケンス法およびPCR-融解曲線分析法を用いた。

(8) 患者の臨床情報と各SNP多型間で相関解析を行った。各候補遺伝子ごとに、early stageとlate stage群間で、jaundice stageとnon-jaundice stage群間で、SNPs多型の出現頻度を有意差検定( $\chi^2$ 乗検定またはFisherの正確確立検定)することで、PBCの重症化関連遺伝子を同定した。同定した重症化感受性遺伝子はロジスティック回帰分析により、患者年齢補正後、他の重症化関連遺伝子との独立性を検証した。

(9) 同定した候補遺伝子多型を複数組合せたもの(多変量解析を行い、組合せた各多型がお互いに独立していることを検証した後に)をバイオマーカーとして用い、PBCの重症化を予測できる遺伝子診断法であるかを検証した。 $P$ 値が0.01以下で、高感度、高特異度、高陽性的中率で、かつ高オッズ比(相対的危険を意味する)を示すバイオマーカーの組合せを検索し、検査法としての有用性を評価した。

#### 4. 研究の成果

##### (1) 患者の臨床情報の解析

本研究に登録された333名のPBC患者の平均年齢は64.01  $\pm$  11.26歳で、女性288名(86.5%)、男性45名(13.5%)であった。患者の平均観察期間は69.76  $\pm$  63.12ヶ月で、333名のPBC患者のうち98名(29.4%)は他の自己免疫性疾患を併発していた。

##### (2) 臨床情報の比較

まず、early stageとlate stage群間で臨床情報を比較した結果、late stage群の平均年齢が有意に高く(66.9 vs. 62.8歳,  $P = 0.003$ )、観察期間が有意に長くなっていた(88.7 vs. 62.1ヶ月,  $P = 0.001$ )。これは、患者年齢がlate stageへの進行のリスク因子であることを示すため、多型解析の結果を多変量解析により補正した。次に、jaundice stageとnon-jaundice stage群間で臨床情報を比較した結果、jaundice stage群の平均年齢が有意に低くなっていた(58.8 vs. 64.3歳,  $P = 0.033$ )。

- (3) Late stage への進行に関わる遺伝子
- ① 胆汁酸の合成や合成促進に関わる遺伝子のうち、*CYP7A1* と *CYP8B1* と *HNF4A* と *PPARGC1A* は late stage への進行に関与していた。
- CYP7A1* の rs3824260 の A/A または A/G genotype を持つ患者は、2.58 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0061$ )。 *CYP8B1* の rs12494055 の T/T genotype を持つ患者は、3.63 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0221$ )。 *HNF4A* の rs6031587 の C/C genotype を持つ患者は、2.01 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0049$ )。 *PPARGC1A* の rs8192678 の A/A または A/G genotype を持つ患者は、2.21 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0077$ )。
- ② 過剰な胆汁酸に反応し合成を抑制する遺伝子のうち、*RXRΒ* は late stage への進行に関与していた。
- RXRΒ* の rs2072915 の A/A genotype を持つ患者は、2.18 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0040$ )。
- ③ 胆汁酸の胆管への排泄に関わる遺伝子のうち、*ABCG8* は late stage への進行に関与していた。
- ABCG8* の rs4148222 の T/T または C/T genotype を持つ患者は、1.92 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0297$ )。
- ④ 胆汁酸の腸肝循環に関わる遺伝子のうち、*ASBT* は late stage への進行に関与していた。
- ASBT* の rs4772525 の C/C genotype を持つ患者は、1.72 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0346$ )。
- (4) Jaundice stage への進行に関わる遺伝子
- ① 胆汁酸の合成や合成促進に関わる遺伝子のうち、*CYP7A1* と *PPARGC1A* は late stage への進行に関与していた。
- CYP7A1* の rs1457043 の G/G genotype を持つ患者は、4.55 倍 jaundice stage に進行しやすかった ( $P = 0.0013$ )。 *PPARGC1A* の rs4235308 の C/C または C/T genotype を持つ患者は、3.55 倍 jaundice stage に進行しやすかった ( $P = 0.0358$ )。
- ② 過剰な胆汁酸に反応し合成を抑制する遺伝子のうち、*RXRΒ* と *FGF19* は jaundice stage への進行に関与していた。
- RXRΒ* の rs2072915 の A/A genotype を持つ患者は、5.07 倍 jaundice stage に進行しやすかった ( $P = 0.0178$ )。 *FGF19* の rs948992 の G/G genotype を持つ

患者は、3.35 倍 jaundice stage に進行しやすかった ( $P = 0.0083$ )。

- ③ 胆汁酸の胆管への排泄に関わる遺伝子のうち、*MDR3* と *ABCG8* は jaundice stage への進行に関与していた。
- MDR3* の rs31658 の T/T または C/T genotype を持つ患者は、3.36 倍 jaundice stage に進行しやすかった ( $P = 0.0259$ )。 *ABCG8* の rs4148222 の T/T または C/T genotype を持つ患者は、6.71 倍 jaundice stage に進行しやすかった ( $P = 0.0148$ )。
- ④ 正常な胆管形成や線維化に関わる遺伝子のうち、*ITGAV* は jaundice stage への進行に関与していた。
- ITGAV* の rs1448427 の G/G または A/G genotype を持つ患者は、2.87 倍 late stage に進行しやすかった ( $P = 0.0310$ )。
- (5) PBC の重症化を予測できる遺伝子診断法の有用性の評価

《Late stage への進行の予測》

- ① オッズ比 (相対的危険度) が高かった組合せは、「*CYP8B1* + *PPARGC1A* (オッズ比 (OR) = 9.20)」、 「*CYP8B1* + *PPARGC1A* + *RXRΒ* (OR = 7.58)」 および 「*CYP7A1* + *CYP8B1* + *PPARGC1A* (OR = 6.43)」であった。
- ② 感度が高かった組合せは、「*CYP7A1* + *PPARGC1A* (感度= 71.9%)」、 「*CYP7A1* + *RXRΒ* (感度= 67.7%)」 および 「*PPARGC1A* + *RXRΒ* (感度= 62.5%)」であった。
- ③ 特異度および陽性的中率が高かった組合せは、「*CYP8B1* + *PPARGC1A* + *RXRΒ* (特異度= 99.6%, 陽性的中率= 75.0%)」、 「*CYP8B1* + *PPARGC1A* (特異度= 99.2%, 陽性的中率= 77.8%)」 および 「*CYP7A1* + *CYP8B1* + *PPARGC1A* (特異度= 99.2%, 陽性的中率= 71.4%)」であった。

以上の結果から、検査法として感度・特異度・陽性的中率・オッズ比および  $P$  値のバランスが最も有用であった遺伝子多型の組合せ (バイオマーカー) は「*CYP8B1* + *PPARGC1A*」であり、感度= 7.3%と低かったが、特異度= 99.2%および陽性的中率= 77.8%で、OR = 9.20 (つまり、9.20 倍肝硬変へ進行しやすいことを意味している) と共に高く、そして  $P$  値= 0.0030 と強い相関を認めた。

《Jaundice stage への進行の予測》

バイオマーカーとして jaundice stage への進行を予測できる遺伝子多型の組合せは「*CYP7A1* + *PPARGC1A* + *ABCG8* + *ITGAV*」が最も有用であった。感度・特異度・陽性的中

率・オッズ比・*P* 値は、それぞれで 37.5%, 98.6%, 60.0%, 43.20,  $1.77 \times 10^{-7}$ であった。

今後もバイオマーカーの探索を継続し、感度・特異度・陽性的中率が共に 80%以上であり、オッズ比が 20 以上で、かつ *P* 値が 0.0001 以下のバイオマーカーを用いた遺伝子診断法を開発して臨床応用をめざす。そして、結果のすべてを英語論文にまとめて科学雑誌へ投稿して公表する。また、当研究室のホームページでも公表する。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Ohishi Y, Omagari K, Tsukamoto K, *et al.* Single-nucleotide polymorphism analysis of the multidrug resistance protein 3 gene for the detection of clinical progression in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 48:853-862, 2008.
- ② 大石裕樹, 中村 稔, 塚元和弘. *MDR3* 遺伝子多型と PBC. *肝胆膵* 59:1207-1216, 2009.
- ③ 塚元和弘, 大曲勝久, 中村 稔. 胆汁酸の排泄に関する ABC トランスポーター多型と原発性胆汁性肝硬変の重症化との関連. *臨床薬理の進歩* 31:73-86, 2010.
- ④ Inamine T, Omagari K, Tsukamoto K, *et al.* A polymorphism in the integrin  $\alpha V$  subunit gene affects the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterology*, in press.

[学会発表] (計 17 件)

- ① Nakamura M, Omagari K, Tsukamoto K, *et al.* Identification of serological and genetic biomarkers for predicting the prognosis of primary biliary cirrhosis (PBC): a homozygous "Hap2/Hap 2" diplotype in multidrug resistance protein 3 (*MDR3*) gene confers a strong susceptibility to jaundice-type progression of PBC. 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases 2008, 10/31-11/4 (in San Francisco, USA).
- ② Iio N, Tsukamoto K, *et al.* Identification of the disease gene susceptible to the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. 58th American Society of Human Genetics Annual Meeting 2008, 11/11-15 (in Philadelphia, USA).
- ③ 飯尾直美, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. PBC の重症化関連遺伝子の同定. 第 29 回日本

臨床薬理学会年会 2008, 12/4-6 (東京)

- ④ Iio N, Tsukamoto K, *et al.* Clinical progression in Japanese patients with primary biliary cirrhosis is associated with a single-nucleotide polymorphism of the retinoid X receptor beta gene. 2nd Asian Symposium on Pharmaceutical Sciences in Nagasaki 2009, 3/16-18 (in Nagasaki, Japan).
- ⑤ 大石裕樹, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. *MDR3* は PBC の重症化関連遺伝子である. 日本薬学会第 128 年会 2008, 3/26-28 (横浜)
- ⑥ 飯尾直美, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. PBC の重症化関連遺伝子の同定. 日本薬学会第 128 年会 2008, 3/26-28 (横浜)
- ⑦ 比嘉辰伍, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. *CYP7A1* 遺伝子は原発性胆汁性肝硬変の重症化感受性遺伝子である. 日本薬学会第 129 年会 2009, 3/26-28 (京都)
- ⑧ 野口扶美枝, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. *HNF-4 $\alpha$*  遺伝子は原発性胆汁性肝硬変の重症化感受性遺伝子である. 日本薬学会第 129 年会 2009, 3/26-28 (京都)
- ⑨ 比嘉辰伍, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. *CYP7A1* 遺伝子は原発性胆汁性肝硬変の疾患抵抗性遺伝子である. 第 17 回医療薬学フォーラム 2009, 7/11-12 (京都)
- ⑩ Inamine T, Omagari K, Tsukamoto K, *et al.* Diplotype polymorphisms of the salt export pump gene are associated with susceptibility to the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. 59th American Society of Human Genetics Annual Meeting 2009, 10/20-24 (in Honolulu, USA).
- ⑪ Noguchi F, Omagari K, Tsukamoto K, *et al.* Haplotype and diplotype polymorphisms of *HNF-4 $\alpha$*  as a genetic biomarker for susceptible to the severe progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. 59th American Society of Human Genetics Annual Meeting 2009, 10/20-24 (in Honolulu, USA).
- ⑫ Higa S, Omagari K, Tsukamoto K, *et al.* The cholesterol 7  $\alpha$ -hydroxylase gene susceptible to the severe progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. 59th American Society of Human Genetics Annual Meeting 2009, 10/20-24 (in Honolulu, USA).
- ⑬ Nakamura M, Tsukamoto K, *et al.* The genetic polymorphisms of *CTLA-4* and *SLC4A2* are differently associated with anti-gp210 and anti-centromere antibodies production in Japanese

patients with primary biliary cirrhosis. The 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases 2010, 10/29-11/2 (in Boston, USA).

- ⑭ Inamine T, Omagari K, Tsukamoto K, *et al.* Polymorphisms of the genes encoding hepatobiliary transporters are associated with susceptibility to the severe progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. 第3回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2009, 11/14-15 (福岡)
- ⑮ 比嘉辰伍, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. PBC進行と *MRP2* 遺伝子多型との相関解析. 第30回日本臨床薬理学会年会 2009, 12/3-5 (横浜)
- ⑯ 河内歩美, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. *ABCG5/ABCG8* 遺伝子は原発性胆汁性肝硬変の重症化感受性遺伝子である. 日本薬学会第130年会 2010, 3/28-30 (岡山)
- ⑰ 稲嶺達夫, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. *FGF19* 遺伝子は原発性胆汁性肝硬変の重症化に関与する. 日本薬学会第131年会 2011, 3/28-31 (静岡)

[その他] (計2件)

- ① 学会発表の番号7の「比嘉辰伍, 大曲勝久, 塚元和弘, 他. *CYP7A1* 遺伝子は原発性胆汁性肝硬変の重症化感受性遺伝子である. 日本薬学会第129年会 2009, 3/26-28 (京都)」は, 日本薬学会が厳選して一般市民用に公開している「ハイライトポスター賞」に選ばれ, 一般市民向けに研究成果を公表した。
- ② 研究成果を代表者、分担者それぞれの研究室のホームページに公開している。  
「<http://sun.ac.jp/prof/omagari/>」  
「[http://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/research/rsh\\_mt.html](http://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/research/rsh_mt.html)」

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大曲 勝久 (OMAGARI KATSUHISA)  
長崎県立大学・看護栄養学部・教授  
研究者番号：90244045

### (2) 研究分担者

塚元 和弘 (TSUKAMOTO KAZUHIRO)  
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号：30253305

### (3) 研究協力者

稲嶺 達夫 (INAMINE TATSUO)  
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：00549628

大石 裕樹 (OHISHI YUKI)  
飯尾 直美 (IIO NAOMI)  
比嘉 辰伍 (HIGA SHINGO)  
野口 扶美枝 (NOGUCHI FUMIE)  
河内 歩美 (KAWAUCHI AYUMI)  
橋口 寿恵 (HASHIGUCHI TOSHIE)  
宇田 さやか (UDA SAYAKA)  
岡部 優里 (OKABE YURI)  
佐々木 万莉 (SASAKI MARI)