

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03647

研究課題名（和文）心臓前駆細胞の「自己の確立」を支える分子機構

研究課題名（英文）The Study of Molecular Mechanism to Establish Cardiac Progenitor's Identity

研究代表者

八代 健太（Yashiro, Kenta）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：60432506

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：将来心臓となる最初期中胚葉と心臓前駆細胞（CPCs）の間の「中間状態」を、Gfra2と遺伝子X（知財関係で遺伝子名を公表せず）の発現で同定できるとの独自の知見を起点とし、いまだに多くが不明のCPCsの自己確立過程における分子機構を解明するため、シングルセル解析とエンハンサー解析により、シグナル経路、細胞間相互作用、そして分化経路を包括的に解析する基盤研究を行った。CPCsの自己確立は特定のシグナル経路で支えられていることが示唆され、ロバストな現象であることが判明した。また、遺伝子Xの発現に必要な十分なエンハンサーを含むゲノム領域を同定した。これらの知見を基盤とし、さらに研究を発展させたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の研究から得られたデータにより、心臓中胚葉から分化しCPCsとしての自己を確立する分子機構の一端が明らかとなった。得られた新たな知見をもとに、次の課題である「CPCsへとロバストな分化を誘導するスイッチは何か」を解析する起点を得られたと考えている。CPCsの機能的異常は先天性心疾患の原因になり得るため、今後はそのような疾患の背景にある分子病態の理解をさらに深め、新たな治療開発へ基盤的知見を提供する研究を期待できる。また、そのような知見は、多能性幹細胞から心臓再生医療に用いる心筋細胞を得る効率を上げ、労力とコストの削減と質の向上に大きく貢献することも期待される。

研究成果の概要（英文）：In our previous work, we have originally found that gene X, whose name is not disclosed here due to intellectual property reasons, and Gfra2 gene can identify “an intermediate state” between cardiac mesoderm and cardiac progenitor cells (CPCs). Based on this original knowledge, we aimed to better understand the molecular mechanism underlying the establishment of CPCs’ identity, which remains still largely unknown. We elucidated comprehensively the signals, cell-cell interactions and differentiation pathways from cardiac mesoderm to CPCs via an intermediate state, with single cell study and enhancer analysis for gene X. Then, we found: (1) CPCs’ identity is robustly induced, likely by some specific signals, (2) chromatin remodeling is unlikely primary for this process, and (3) approximately 300 bp of genomic region of gene X locus is sufficient and essential for the expression among cardiac cells. Based on this novel knowledge, we will further explore what induces CPCs’ identity.

研究分野：発生生物学

キーワード：心臓前駆細胞 分化運命決定 シングルセル解析 マルチオミクス解析 シグナル経路 細胞間相互作用 エンハンサー

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

心臓の主要な構成細胞は、中胚葉に由来する。マウスでは、原腸陥入によって胎生 (E) 6.5 日胚で中胚葉が生じ始める。この中胚葉の一部が、将来の心臓へ寄与する最も未分化な心臓中胚葉細胞となり、転写因子 *Mesp1* の発現を開始する。*Mesp1*<sup>+</sup>心臓中胚葉細胞は胚の前方へと遊走移動し、その途上で *Mesp1* の発現を失い、最も前方の細胞から後方へと順に、心臓を構成する細胞へ分化が限定された細胞集団である心臓前駆細胞 (CPCs) としての自己を獲得し、転写因子 *Nkx2-5* などの CPCs マーカー遺伝子の発現を開始する。

「CPCs としての自己」の確立は、心臓を構成する細胞の分化の端緒であり、その異常は先天性心疾患の原因にもなり得る。したがって、その分子機構の解明は、先天性心疾患の分子病態の理解を深めることにつながることを期待できる。また、このような知見は、多能性幹細胞 (ES/iPS 細胞) から心臓の再生医療に必要な細胞を、できるだけ短い時間で低労力・低コストによって安定に得るために重要である。しかしながら、この CPCs の自己確立の背後にある分子機構に関し、多くは不明なままである。

本研究の研究代表者らの独自の先行研究では、CPCs の特質と分化を次世代シーケンサーによるシングルセル解析を用いて研究を行っていた。この独自の先行研究において、細胞表面抗原 *Gfra2* 遺伝子と遺伝子 *X* (知財の関係で遺伝子名を公表せず) の発現を、心臓中胚葉から CPCs へ分化する過程での「中間状態」のマーカーとして用いることができることを見出していた (H Ishida, K Yashiro *Cell Rep* 2016, K Yashiro 未発表)。本研究では、*Gfra2* 遺伝子と遺伝子 *X* をそのような中間状態のマーカーとして用いて、従来の方法では認識できなかったこの中間状態の細胞を同定することで未分化な心臓中胚葉と CPCs の間のギャップを埋め、CPCs を心臓中胚葉およびこの中間状態の細胞の特質と比較することで、マウス胚において CPCs が形成される過程の背後にある分子生物学的機構の理解に向けて新たな鍵を見出すことができるのではないかと考え、本研究を発案し実施した。

## 2. 研究の目的

本研究は、最先端のシングルセル解析手法 (シングルセル遺伝子発現解析である scRNA-seq とシングルセルオープンクロマチン解析である cATAC-seq) を駆使しながら、独自の知見を用いて CPCs の自己確立過程における分子生物学的特質の遷移を包括的に解析し、心臓中胚葉から中間状態を経て CPCs へと至る間に生じるシグナルの変化、細胞間相互作用、そして分化経路を理解し、これにより CPCs の自己確立の分子機構を解明するための基盤研究を目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究での上記の目的を達成するために、以下の2つの研究手法を採用した。

### (1) CPCs の自己確立の過程におけるマウス胚に対する網羅的シングルセル解析

原腸陥入期後期、尿膜芽期前・同後期と頭摺期前期の各ステージのマウス胚体組織由来のシングルセル遺伝子発現解析 (scRNA-seq) は、public database に登録された既報のデータセットを用いてメタ解析を行った (B Pijuan-Sala, B Goettgens, et al. *Nature* 566: 490-495, 2019)。また、上述の発生ステージの野生型マウス胚をそれぞれ妊娠した CD1 雌マウスから摘出し、シングルセルへと分離、シングルセルオープンクロマチン解析 (scATAC-seq) を、10XGenomics 社 Chromium と Illumina 社次世代シーケンサー-NuvaSeq6000 を用いて実施した。

ワークステーションによるバイオインフォーマティクス解析は、Seurat を基本的には用いて実施した。scRNA-seq と scATAC-seq データは、cross-modality integration & label transfer (*Cell* 177: 1888-190, 2019) に基づき、annotation transfer によって統合し解析した。次元削減により Uniform Manifold Approximation & Projection (UMAP)によりクラスター解析を実施し、発現変動遺伝子 (DEG) の抽出、Gene Ontology 解析、cell trajectory (分化経路推定) 解析、pseudo-time 解析、Cell Chat による細胞間相互作用/シグナル解析等を実施した。

解析の結果抽出された注目すべきシグナル経路に対し、特異的な阻害剤と活性化剤を用い

て原腸陥入期 (E6.5 日) の野生型マウス胚に対して全胚培養を実施し、E8.5 日胚相当に成長した段階で *Actc1* (cardiac actin) 遺伝子の発現に対する whole mount in situ hybridization を実施し、心筋分化に対する各シグナル経路の影響も検証した。

## (2) CPCs の自己確立過程で発現するために必要十分なエンハンサーの同定

遺伝子 *X* の発現に必要なエンハンサーを同定することに焦点を絞り、研究を行った。

*in vivo* におけるエンハンサー活性に対するアッセイは、トランスジェニックマウスにて実施した (トランスジェニック・トランジェント・アッセイ)。解析標的であるゲノム断片に *hsp* プロモーターと *lacZ* レポーター遺伝子を連結し、マウス前核期の受精卵にマイクロインジェクションを行い、偽妊娠マウスの子宮へ移植して着床・発生させ、原腸陥入期中期～後期まで成長した胚を回収の上 *x-gal* 染色を実施し、内在性の遺伝子発現と部位を比較した。また染色の強さを活性の強度として判定した。

一方、3R に鑑み、なるべくマウス個体の使用数を減らすため、マウス ES 細胞の心筋分化誘導系を利用した *in vitro* でのエンハンサー活性の測定方法を適宜使用し、エンハンサーの存在する領域を絞り込んだ (Biol Open. 2: 1229–1238, 2013)。マウス ES 株である E14tg2a 株においてプロモーター領域の欠失により *Hprt* 遺伝子が機能喪失していることを利用し、解析標的のゲノム断片に *hsp* プロモーターと *Venus* 遺伝子をレポーターとして連結した DNA 断片と、その下流に E14tg2a 株の *Hprt* 遺伝子座を修復するためのゲノム断片を連結した targeting vector を作成し、E14tg2a 細胞へと transfect した。*Hprt* 遺伝子座へのノックインが成功し *Hprt* 遺伝子座が修復されたクローンでは、*Hprt* が機能することから HAT (ヒポキサンチン・アミノプテリン・チミジン含有) 培地下で生存できるが、ノックインできなかった細胞は生存できない (HAT 選択)。ノックインが成功し HAT 選択によってクローニングされた細胞では、*Hprt* 遺伝子座の上流にエンハンサー活性をアッセイしたいゲノム断片に *hsp* プロモーターと *Venus* レポーター遺伝子が連結した DNA が挿入されるため、当該のゲノム断片の有するエンハンサー活性に従って *Venus* の発現が誘導されることから、解析標的のエンハンサー活性を *Venus* の発現により定量することができる。正しくノックインされた ES 細胞に対して心筋分化誘導を行い、CPCs が誘導されるタイミングである分化誘導 6~7 日目に細胞を回収の上、*Venus* の発現を real-time RT-PCR にて測定した。*Venus* 遺伝子発現量は、内在性の遺伝子 *X* の発現量にて補正し、標準化された定量データとして解析に使用した。

この *in vitro* のアッセイを用いて領域を絞り込むスクリーニングを行い、適宜トランスジェニック・トランジェント・アッセイによって個体における活性を確認しながら、遺伝子 *X* が心臓中胚葉から CPCs へ至る際の発現に必要なエンハンサーが存在するゲノム領域の同定を行った。

## 4. 研究成果

### (1) CPCs の自己確立の過程におけるマウス胚に対する網羅的シングルセル解析

原腸陥入期後期、尿膜芽期前、同後期と頭摺期前期の 4 つの各ステージの scRNA-seq の先行研究データを自身のワークステーションへとダウンロードし、メタ解析を実施した (B Pijuan-Sala, B Goettgens, et al. Nature 566: 490–495, 2019)。QC 解析・死細胞データの除去・doublets の除去・バッチ補正を行い、次元削減により UMAP を実施した。これにより得られたクラスターに対し、マーカー遺伝子の発現をもとに「胚体中胚葉」と「CPCs」のカテゴリーに分類できるクラスターのみを抽出し、その後の解析に用いることとした。

得られた UMAP のクラスターに対し、まずは分化経路の推定 (Trajectory 解析) を実施した。擬似時間軸 (pseudotime) に沿った遺伝子発現の経時的変化を解析したところ、4 つのステージに統計学的に分類できることが判明した。このステージは胚の形態学的ステージ分類の原腸陥入期後期・尿膜芽期前期・同後期・頭摺期前期の 4 つのステージにはほぼ一致した。遺伝子 *X* は尿膜芽期前期に、*Gfra2* は遺伝子 *X* にやや遅れて尿膜芽期後期に発現が確立することも判明した。すなわち、*Mesp1*<sup>+</sup>心臓中胚葉→*Mesp1*<sup>+</sup>・*X*<sup>+</sup>心臓中胚葉→*Mesp1*<sup>弱+</sup>・*X*<sup>+</sup>・*Gfra2*<sup>+</sup>心臓中胚葉→*Mesp1*<sup>neg</sup>・*X*<sup>+</sup>・*Gfra2*<sup>+</sup> CPCs と細胞の形質が変化していた。

この各々のステージへと移行する際に有意差を持って変動する遺伝子 (DEG) を抽出し、

これに関し Gene Ontology 解析を実施したところ、原腸陥入期後期→尿膜芽期前期間では翻訳・リボソーム合成・細胞周期制御関連分子の発現が誘導されることが明らかとなった。すなわち、このステージでは心臓中胚葉細胞プールの拡大が主な分子イベントであると推察された。次の分化段階である尿膜芽期前期→尿膜芽期後期にかけては、主に RNA splicing・クロマチンのリモデリングおよび RNA 合成に関わる遺伝子群の発現が誘導されていた。したがって、後続する現象 (CPCs のアイデンティティ獲得) に必要とされる遺伝子群の発現に備えているステージであると思われた。最後に CPCs としてのアイデンティティが確立される尿膜芽期後期→頭摺期前期に至る過程では、心臓発生・心筋分化・アクトミオシン系制御関連遺伝子の発現が有意に誘導されていた。すなわち、CPCs のアイデンティティを担う遺伝子群の発現は徐々に誘導されるのではなく、極めてロバストに数時間ほどで誘導されることが判明した。

次にこのロバストなイベントが生じる尿膜芽期後期→頭摺期前期の過程でどのような細胞間相互作用が遺伝子発現プロファイルから予測されるのかを CellChat を用いて解析したところ、BMP・WNT・SHH・EPH・PDGF・IGF に加えてカドヘリンを含む細胞接着因子の担うシグナルが誘導されていることが推察された。これらのシグナル因子に対し、低分子阻害剤もしくは活性化剤が商業ベースで入手可能であるシグナル経路に対し、それらを用いて原腸貫入後期胚に対して 48 時間の全胚培養を実施し、心筋マーカーである *Actc1* の発現を whole mount *in situ* hybridization にてアッセイした結果、古典的 WNT の阻害が強い心筋分化抑制効果を発揮する一方で、SHH の活性化は分化を促進する傾向があることを示唆する結果を得た。今後これらの各シグナルの CPCs 分化における役割をさらに解析を行い、CPCs のアイデンティティ獲得のロバストネスを誘導する「スイッチ」は何かを解明していきたい。

一方、独自に取得した scATAC-seq のデータに対し、Seurat を用いて QC 解析・死細胞情報の除去・doublets の除去・バッチ補正を行ったのち、annotation transfer を用いて、上述の scRNA-seq と scATAC-seq のデータを統合した。*Mesp1* を発現している細胞集団におけるオープンクロマチン領域に統計的優位差を持って見出される転写因子結合配列は、主に *Gata4* を含む GATA 転写因子の結合部位と *Hand2* を含む bHLH 転写因子群の結合部位であり、以前から指摘されていたこれらの転写因子群の CPCs 分化における機能の重要性が確認できた。CPCs でロバストな発現誘導を示す *Nkx2-5* や *Tbx5* といった CPCs マーカー遺伝子の遺伝子座に関して解析を行うと、原腸陥入期後期・尿膜芽期前期・同後期・頭摺期前期を通じてクロマチン構造の大きな変化が認められず、この過程を通じて常にクロマチンはオープンな状態に保たれていることが判明した。一方、CPCs に分化すると発現が消失する *Mesp1* 遺伝子座は、オープンからクロズドな構造へと変化しており、*Mesp1* の発現の制御には積極的なクロマチン・リモデリングの機構が関わっていることが示唆された。

これらの得られた結果をまとめ、論文発表に向けての準備を行っている。

## (2) CPCs の自己確立過程で発現するために必要十分なエンハンサーの同定

遺伝子 *X* に隣接する遺伝子までの非コード DNA 領域及び遺伝子 *X* のイントロンを含む約 30 kb のマウスゲノム断片を cloning し、Sanger sequencing にて cloning したゲノム断片に変異がないことを確認した上で、CPCs へと分化する過程でのこの 30 kb のエンハンサー活性を解析するためにトランスジェニック・トランジェント・アッセイを行った。*lacZ* の発現部位は、whole mount *in situ* hybridization によって視覚化できる遺伝子 *X* の原腸陥入期後期における発現部位と完全に一致したことから、この 30 kb に十分なエンハンサーが含まれていることが確認された。

この 30 kb のゲノム断片に対し、マウス ES 細胞でエンハンサー活性を *Venus* 蛍光遺伝子の発現で測定できる *in vitro* 実験系にてアッセイし、これを最大の発現活性としての基準直とした。系統的に *X* 遺伝子座由来 30 kb のゲノム断片に対し deletion construct を作成して、上述の基準値と比較する *in vitro* アッセイを行い、遺伝子 *X* の最終エクソンから 3 kb ほどの下流にある約 300 bp のゲノム断片に、遺伝子 *X* の必要かつ十分なエンハンサー活性が存在することを突き止めた。今後は、この約 300 bp の *in vivo* のエンハンサー活性をトランスジェニック・トランジェント・アッセイにて確認し、ここにどのような転写因子の結合配列が存在し、その中のどれが必要かつ十分なのかを検証の上、論文発表の準備に入る予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0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 Daisuke Kobayashi, Kenta Yashiro, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Myosin phosphatase target subunit 1 governs integrity of the embryonic gut epithelium to circumvent atresia development in medaka, <i>Oryzias latipes</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	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） 10.1101/2021.12.10.472183	査読の有無 無
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 八代健太	4. 巻 84
2. 論文標題 先天性心疾患	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 小児科診療	6. 最初と最後の頁 1055-1062
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 無
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 Matsuo Kazuhiko, Nakajima Yoshiro, Shigeta Masaki, Kobayashi Daisuke, Sakaki Shinichiro, Inoue Satoshi, Takeshita Naoki, Ueyama Atsuko, Nishikawa Kousuke, Saba Rie, Yokoyama Takahiko, Yashiro Kenta	4. 巻 -
2. 論文標題 Ciliary protein CEP290 regulates focal adhesion via microtubule system in non-ciliated cells <sup>1</sup>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	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） 10.1101/2023.04.02.535304	査読の有無 無
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18件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 井上聡, 八代健太, 他
2. 発表標題 シングルセル解析でとらえた心臓中胚葉から心臓前駆細胞への分化メカニズム
3. 学会等名 第126回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松尾和彦, 八代健太, 他
2. 発表標題 一次線毛タンパクCEP290は微小管系を介してFocal Adhesionを制御する
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中島由郎, 八代健太, 他
2. 発表標題 嚢胞腎発症に関わるタンパク質複合体の解析
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮西真希, 八代健太, 他
2. 発表標題 GPI アンカー型表面抗原GFRA2を介するシグナル経路が心筋分化に果たす役割の検討
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kenta Yashiro
2. 発表標題 Molecular mechanics governed by the genetic left-right asymmetry programme underlying cardiac outflow tract morphogenesis
3. 学会等名 Yamada Conference LXXV "Origin of left-right asymmetry in animals" (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹下直樹, 八代健太, 他
2. 発表標題 軽量のボリュームレンダリング処理ソフトウェアの開発と, 空間内セグメンテーションによるマウス胚の三次元観察の手法
3. 学会等名 第21回心臓血管発生研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 榊真一郎, 八代健太, 他
2. 発表標題 心臓流出路の形態形成における転写因子 PITX2c の役割の解明
3. 学会等名 第21回心臓血管発生研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上聡, 八代健太, 他
2. 発表標題 シングルセル解析によって捉えた心臓中胚葉細胞から心臓前駆細胞への分化メカニズム
3. 学会等名 第21回心臓血管発生研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 榊真一郎, 八代健太, 他
2. 発表標題 心臓流出路の形態形成における転写因子PITX2cの役割の解明
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上聡, 八代健太, 他
2. 発表標題 Single cell analysis on the transitional state from Mesp1-expressing cardiac mesoderm cells to cardiac progenitor cells during heart development
3. 学会等名 第6回日本循環器学会基礎研究フォーラム (BCVR)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 八代健太
2. 発表標題 Molecular Mechanism Underlying The Development of Ventriculoarterial Connection of The Heart
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 榊真一郎, 八代健太, 他
2. 発表標題 心臓流出路の形態形成における転写因子 PITX2c の役割の解明
3. 学会等名 第20回日本心臓血管発生研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 八代健太
2. 発表標題 発生学から見た心筋症
3. 学会等名 第57回小児循環器学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 八代健太
2. 発表標題 Novel Findings of Myocardial Differentiation via Single Cell Analysis
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 八代健太
2. 発表標題 心筋細胞発生研究と臨床
3. 学会等名 第56回日本小児循環器学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 八代健太
2. 発表標題 心血管系の発生
3. 学会等名 第60回先天異常学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kenta Yashiro
2. 発表標題 Elucidation of Myocardial Differentiation from Single Cell Analysis
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 八代健太
2. 発表標題 シングルセル解析から見えてきた心臓前駆細胞の姿
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山岸 敬幸、白石 公	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 336
3. 書名 新 先天性心疾患を理解するための臨床心臓発生学	

〔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
連携研究者	佐波 理恵  (Saba Rie)  (80378893)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・特任助教   (24303)	
連携研究者	小林 大介  (Kobayashi Daisuke)  (60376548)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師   (24303)	
連携研究者	中島 由郎  (Nakajima Yoshiro)  (30455430)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教   (24303)	

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
連携研究者	茂田 昌樹  (Shigeta Masaki)  (60616217)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教    (24303)	
連携研究者	松尾 和彦  (Matsuo Kazuhiko)  (70599753)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教    (24303)	
連携研究者	目野 主税  (Meno Chikara)  (20311764)	九州大学・医学研究院・教授    (17102)	
連携研究者	北島 桂子  (Kitajima Keiko)  (00332784)	九州大学・医学研究院・教授    (17102)	
連携研究者	奥崎 大介  (Okuzaki Daisuke)  (00346131)	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任准教授(常勤)    (14401)	
連携研究者	元岡 大祐  (Motooka Daisuke)  (10636830)	大阪大学・微生物病研究所・助教    (14401)	

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