

機関番号：10101

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21200079

研究課題名（和文）細胞外核酸による免疫応答惹起の分子機構

研究課題名（英文）Molecular mechanism by which extracellular RNA activates Toll-like receptor 3

研究代表者

松本 美佐子 (MATSUMOTO MISAKO)

北海道大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：30332456

研究成果の概要（和文）：エンドソームに局在する Toll-like receptor 3 (TLR3)はウイルス由来の二重鎖RNA(dsRNA)を認識し、タイプIインターフェロンや炎症性サイトカイン産生の誘導、樹状細胞の成熟化を介して抗ウイルス応答を誘起する。一方、TLR3はネクロシス細胞由来のRNAを認識し炎症性サイトカイン産生を誘導するとの報告もあり、TLR3によって認識されるRNA構造は明らかでない。本研究ではTLR3による細胞外ウイルスRNA認識機構を解析し、以下のことを明らかにした。1. TLR3は、dsRNA以外に、ウイルス由来の特定の二次構造を有するssRNAを認識しシグナルを伝達する。2. dsRNAや特定の構造をもつssRNAの細胞内取り込みとエンドソームTLR3への配送に、細胞質タンパクRaftlinが不可欠である。3. RaftlinはdsRNA刺激で細胞表面に移行し、クラスリン-AP-2複合体と協調してdsRNAの取り込みに働く。これらの結果は、TLR3活性化は取り込みレセプターによる細胞表面での認識とTLR3によるエンドソームでの認識というふたつの側面で制御されることを示唆しており、アジュバントとしてTLR3リガンドを考案する際の有用な知見になる。

研究成果の概要（英文）：Toll-like receptor (TLR) 3 recognizes dsRNA in the endosomes and induces type I interferon and proinflammatory cytokine production, and dendritic cell (DC) maturation via the adaptor protein TICAM-1. The mechanism by which extracellular dsRNA is delivered to TLR3-positive organelles remains to be elucidated. In this study, we demonstrate that TLR3 recognizes virus-derived ssRNAs with stable stem structures, in addition to dsRNA, and that the cytoplasmic lipid raft protein, Raftlin, is essential for dsRNA/ssRNA cellular uptake in human myeloid DCs and epithelial cells. Raftlin physically associates with clathrin at the plasma membrane in response to dsRNA and mediates cell entry of dsRNA/ssRNA, which is critical for activation of TLR3. Hence, both cell-surface and endosomal recognition of RNAs by the uptake receptor and TLR3, respectively, is required for TLR3 activation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,400,000	2,520,000	10,920,000
2010年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2011年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
年度			
年度			
総計	23,800,000	7,140,000	30,940,000

研究分野：自然免疫

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：自然免疫、Toll-like receptor、ウイルス感染、樹状細胞、タイプ I インターフェロン、炎症性サイトカイン、エンドサイトーシス、プロテオーム

1. 研究開始当初の背景

樹状細胞による細胞外核酸認識はエンドソームに局在する 1 型膜タンパク質の Toll-like receptor (TLR) 3, 7, 8, 9 によって担われ、タイプ I インターフェロン (IFN) や炎症性サイトカイン産生、樹状細胞の成熟化が誘導される。核酸に対する免疫応答は、ウイルス感染防御のみならず、自己免疫疾患の発症や増悪と関連することから、特に TLR7, TLR9 に関して細胞内局在制御やリガンド認識機構の解析が主に国外で進められていた。一方 TLR3 は、ウイルス由来の二重鎖 RNA (dsRNA) や合成 dsRNA の poly(I:C) をエンドソームで認識し、アダプター分子 TICAM-1 (別名 TRIF) を介してタイプ I IFN、炎症性サイトカイン産生、樹状細胞の成熟化を誘導するが、細胞外 dsRNA がどのような機構でエンドソーム TLR3 へ運搬されるか不明であった。また、TLR3 は dsRNA を生じないウイルス感染や組織傷害の場において炎症性サイトカイン産生を誘導するが、認識される RNA 分子は解析されていなかった。細胞外の dsRNA はエンドソーム TLR3 のみでなく細胞質の RIG-I-like receptors (RLRs) も活性化し強力な樹状細胞応答を惹起する。TLR3 シグナルは骨髄系樹状細胞に NK 細胞, CTL 活性化能を付与するため、次世代アジュバントとしてがん免疫、感染症の領域で注目を浴びており、TLR3 と RIG-I シグナルの区分けや副作用の少ない TLR3 リガンドの開発が世界的な競争となっている。

2. 研究の目的

本研究では、TLR3 リガンドの細胞内取り込みと樹状細胞応答を分子レベルで明らかにするため、(1) TLR3 リガンドの構造解析 (2) 核酸取り込みレセプターの単離・同定を行う。また、樹状細胞応答における TLR3 と RLR シグナルを区分けするため、(3) TICAM-1 シグナル伝達機構の解明 (4) TLR3-TICAM-1 経路のみ活性化する新規 TLR3 リガンドの開発を行う。

3. 研究の方法

(1) TLR3 リガンドの構造解析

TLR3 により認識される基本的な RNA 構造を明らかにするため、感染細胞内に (+) 鎖 ssRNA と dsRNA が検出されるポリオウイルスの cDNA をテンプレートに 500-1800bp の断片化された (+) 鎖、(-) 鎖の ssRNA、それらの dsRNA を *in vitro* 転写で作製し、TLR3 活性化能を① TLR3 発現 HEK293 細胞を用いた IFN- β promoter の活性化②内在的に TLR3 を発現するヒト繊維芽細胞、上皮系細胞、野生型ある

いは TLR3 KO マウス由来の脾臓 CD11c 陽性樹状細胞、CD8 α 陽性樹状細胞からの IFN- α/β , TNF- α , IL-6 産生誘導で査定した。更に、TLR3 を活性化する RNA と活性化しない RNA を用いて、二次構造予測と生化学的解析を行った。

(2) 核酸取り込みレセプターの単離・同定

① Poly(I:C) 結合活性を有するヒト細胞株 (HEK293 細胞、Raji 細胞) の可溶化物を大量に調製し、poly(I:C) 結合タンパク質を polyU-, poly(I:C)-Sephacrose を用いてアフィニティー精製した。PolyU-Sephacrose, poly(I:C)-Sephacrose からの溶出蛋白を SDS-PAGE で分離後、Ms 解析を行い、poly(I:C) に特異的に結合する膜蛋白質あるいは膜結合活性を有するタンパク質を選別した。Ms 解析は、北海道大学大学院先端生命科学研究小布施教授に依頼した。

② 候補タンパク質を siRNA でノックダウンし、poly(I:C) 刺激による IFN- β 産生誘導、および取り込みへの関与を調べた。

③ 同定したタンパクの生理的役割を明らかにするため、Raftlin ノックアウトマウスの骨髄系樹状細胞を用いて poly(I:C) 刺激による IFN- β 産生を測定した。ノックアウトマウスは慶応大学吉村教授から供与された。

④ Raftlin の細胞内局在、poly(I:C) 刺激後の細胞内動態、TLR3 やオルガネラマーカー分子との共局在など共焦点レーザー顕微鏡で解析した。

(3) TICAM-1 シグナル伝達機構の解明

① TICAM-1 の下流のシグナルは、タイプ I IFN 産生 (IRF-3 活性化)、炎症応答誘導 (NF- κ B 活性化)、アポトーシス/ネクロプトーシス誘導に分かれる。TICAM-1 活性化に関与するドメインと活性化制御機構を明らかにするため、種々の TICAM-1 N 末 deletion 体及びアラニン変異体を作製し、IFN- β promoter, NF- κ B, AP-1 の活性化をレポーター遺伝子アッセイで調べた。また、下流のシグナル伝達分子 (TRAF2, TRAF3, TRAF6, NAP1, TBK1, RIP1) との会合は、免疫沈降実験と共焦点レーザー顕微鏡による細胞内共局在の観察により検討した。

② TICAM-1 NTD (1-176 a. a.) の機能を明らかにするため、NTD を TICAM-1 の N 末ドメイン (1-386 a. a.)、TIR ドメイン (387-566 a. a.)、あるいは C 末ドメイン (567-712 a. a.) とともに HEK293FT 細胞に共発現させて免疫沈降を

行い、分子内で相互作用するかどうか判定した。更に、CoralHue Fluo-chase Kit (MBL) を用いてタンパク質コンプリメンテーション法によるタンパク質間相互作用の解析を行った。

(4) TLR3-TICAM-1 経路のみ活性化する新規 TLR3 リガンドの開発

TLR3 のリガンド認識機構を考慮し、28 種類の RNA 誘導体を合成した。In vitro assay として、① HEK293 細胞を用いての TLR3 を介した IFN-β promoter の活性化、②細胞質内 RLR 経路の活性化、③マウス骨髄系樹状細胞によるサイトカイン産生について検討した。また、in vivo assay として、1. マウス腹腔内投与後の炎症性サイトカイン産生の経時的測定、2. B16 メラノーマ細胞を用いたマウス移植がんモデルにおける NK 細胞依存的抗腫瘍効果の査定、3. EG7 細胞を用いたマウス移植がんモデルにおける CTL 依存的抗腫瘍効果の査定を行った。マウスは B57BL/6 (wild-type, TLR3 KO, TICAM-1 KO) を使用した。

4. 研究成果

(1) TLR3 は dsRNA 以外に、ウイルス由来の internal loop や bulge のある double-strand 領域をもつ ssRNA を認識することが判明した。

この機能性 ssRNA は分解に抵抗性であり、ヒト繊維芽細胞や上皮系細胞、マウス骨髄系樹状細胞から IFN-α/β, 炎症性サイトカイン産生を TLR3-TICAM-1 依存的に誘導した。更に、ウイルス dsRNA アナログの poly(I:C) 同様、Raftlin 依存的に細胞内に取り込まれ初期エンドソームの TLR3 と共局在する事、TLR3 エクトドメインの N 末、C 末に存在する dsRNA 結合領域を介して TLR3 を多量体化させシグナルを伝達することが判明した。二次構造予測と生化学的解析から、機能性 ssRNA は internal loop や bulge のある比較的長い double-strand 構造をもつことが明らかとなった。TLR3 は、dsRNA のみでなく、ウイルス感染細胞から漏出した分解抵抗性のステム構造をもつ RNA も感知し、シグナルを伝達すると考えられた。

(2) 細胞外非自己核酸の取り込みに関与する分子、Raftlin を同定した。

① 質量分析で同定された 127 個のタンパクのうち、lipid raft protein として報告されていた Raftlin が poly(I:C) 刺激による TLR3 を介した IFN-β 産生に重要であることが明らかとなった (図 1)。ヒト上皮系細胞や単球由来樹状細胞の Raftlin をノックダウン

すると、poly(I:C) 刺激による IFN-β 産生が著しく低下し、Raftlin が上皮系細胞および骨髄系樹状細胞において poly(I:C) 刺激による IFN-β 産生に必要であることが判明した (図 2)。

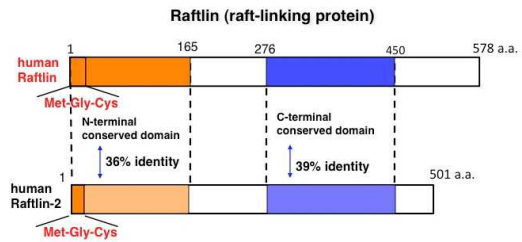


図 1. Raftlin と Raftlin-2 の構造

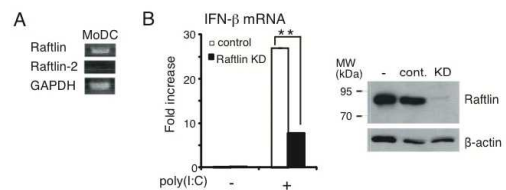


図 2. A. ヒト単球由来樹状細胞における Raftlin と Raftlin-2 の mRNA 発現. B. Poly(I:C) 刺激による IFN-β mRNA の発現. □control 樹状細胞、■Raftlin ノックダウン樹状細胞

② Poly(I:C) 取り込みへの Raftlin の関与

HeLa 細胞やヒト骨髄系樹状細胞において、Raftlin をノックダウンすると poly(I:C) の取り込みはおこらないことから、Raftlin は poly(I:C) の細胞内取り込みに必須の分子であることが明らかとなった (図 3、4)。poly(I:C) 同様クラスリン依存的エンドサイトーシスで取り込まれるトランスフェリンの取り込みは、Raftlin をノックダウンしても影響がなかった (図 3)。

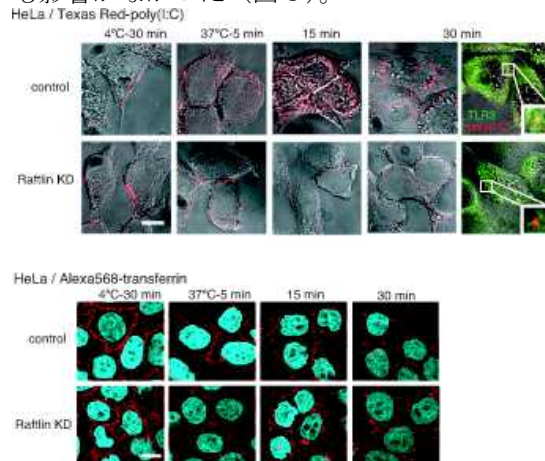


図 3. Poly(I:C) 取り込みへの Raftlin の関与
A. Texas Red 標識 poly(I:C) の取り込み.
B. Alexa568 標識トランスフェリンの取り込み.

上段、control HeLa 細胞;下段、Raftlin ノックダウン HeLa 細胞

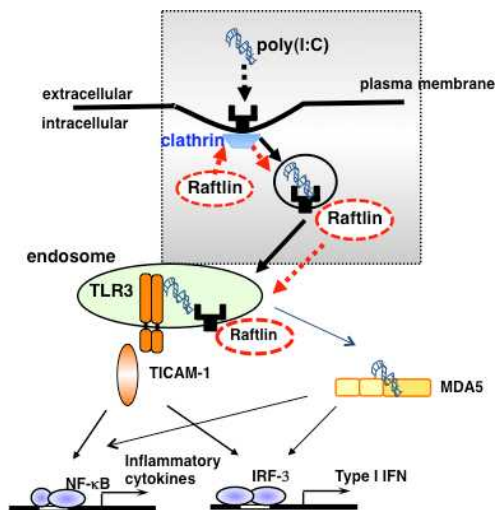
一方、poly(I:C)と取り込みレセプターを共有する B/C-type ODN は、Raftlin をノックダウンすると取り込まれなかったことより、Raftlin は poly(I:C)や ODN などの非自己核酸の取り込みに重要な分子と考えられた。

③ Poly(I:C)取り込みへの mouse Raftlin の関与

Raftlin 欠損マウスの BMDC は wild-type マウス由来 BMDC と同様に poly(I:C) 刺激で IFN- β を産生し、poly(I:C) の細胞内取り込みが見られた。マウス BMDC は Raftlin 以外に Raftlin-2 を発現しているため、Raftlin-2 shRNA-expressing lentivirus を感染させて Raftlin-2 をノックダウンしたところ、poly(I:C) による IFN- β 産生が減弱し、poly(I:C) の取り込みが起きなかった。従って、マウス BMDC では Raftlin と Raftlin-2 が poly(I:C) の取り込みに関与していると考えられた。

④ Poly(I:C) 輸送機構

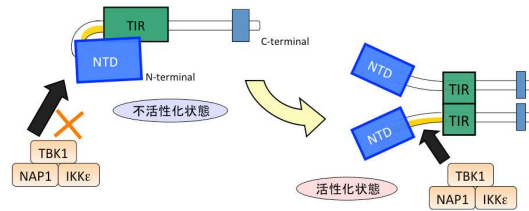
Raftlin は poly(I:C) 刺激で細胞質から細胞膜に移行し、細胞膜でクラスリン-AP-2 複合体と協調して poly(I:C) の取り込みを誘導し、TLR3 エンドソームへ配送することが明らかとなった (Watanabe et al., J. Biol. Chem. 2011)。



(3) TBK1 との結合に関与し、TICAM-1 による IRF-3 活性化に必須のアミノ酸 L194 を同定した。TICAM-1 は N 末端側に 8 個の α -helix からなる新規のドメイン構造 (NTD) を有している。タンパク質コンプレメンテーション法

によるタンパク質間相互作用の解析から、NTD の N 末端側が TIR ドメインの N 末端側に結合することが判明した。Naïve な TICAM-1 においては、NTD が TIR ドメインの N 末側と分子内結合することで TBK1 結合領域が覆われ、活性化が制御されていることが示唆された。

(Tatematsu et al., J. Biol. Chem. 2010)



(4) TLR3-TICAM-1 経路を活性化し、RLR 経路を活性化しない新規 TLR3 リガンドの開発に成功した。新規 RNA 誘導体は以下の特徴を有する。1. poly(I:C) 同様 Raftlin 依存的に細胞外からエンドソーム TLR3 にターゲットされる。2. TLR3 を活性化し TICAM-1 を介して IFN- β promoter を活性化する。3. 細胞質 RIG-I, MDA5 経路を活性化しない。4. B16 メラノーマ細胞を用いたマウス移植がんモデルにおいて、poly(I:C) と同等の NK 依存性抗がん活性を示す。5. EG7 細胞を用いたマウス移植がんモデルにおいて、抗原特異的 CTL を誘導し抗がん活性を示す。6. マウス生体内投与での炎症性サイトカイン産生量は poly(I:C) 投与より少ない。

細胞外から TLR3 のみを活性化できる RNA 誘導体はこれまで報告がなく、今回の化合物がはじめてである。Poly(I:C) と新規 RNA 誘導体に対する細胞応答を比較することで、TLR3 シグナルと RLR シグナルの選別が可能となり、今後の研究の進展が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 51 件)

英語論文 (すべて査読有)

1. Shime, H., M. Matsumoto, H. Oshiumi, S. Tanaka, A. Nakane, Y. Iwakura, H. Tahara, N. Inoue, T. Seya. 2012. Toll-like receptor 3 signaling converts tumor-supporting myeloid cells to tumoricidal effectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109(6): 2066-2071.
2. Itoh, H., M. Tatematsu, A. Watanabe, K. Iwano, K. Funami, T. Seya and M. Matsumoto. 2011. UNC93B1 physically associates with human

- TLR8 and regulates TLR8-mediated signaling. *PLoS ONE* 6(12): e28500.
3. Sancho-Shimizu V, Pérez de Diego R, Lorenzo L, Seya T, Matsumoto M, et al., 2011. Herpes simplex encephalitis in children with autosomal recessive and dominant TRIF deficiency. *J. Clin. Invest.* 121(12): 4889-4902.
 4. Abe, Y., K. Fujii, N. Nagata, O. Takeuchi, S. Akira, H. Oshiumi, M. Matsumoto, T. Seya, and S. Koike. 2012. The Toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. *J. Virol.* 86(1): 185-194.
 5. Oshiumi, H., M. Okamoto, K. Fujii, T. Kawanishi, M. Matsumoto, S. Koike, and T. Seya. 2011. The TLR3-TICAM-1 pathway is mandatory for innate immune responses to poliovirus infection. *J. Immunol.* 187: 5320-5327.
 6. Miyashita, M., H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. 2011. DDX60, a DHXD/H box helicase, is a novel antiviral factor promoting RIG-I-like receptor-mediated signaling. *Mol. Cell Biol.* 31(18): 3802-3819.
 7. Watanabe, A. M. Tatematsu, K. Saeki, S. Shibata, H. Shime, A. Yoshimura, C. Obuse, T. Seya, and M. Matsumoto. 2011. Raftlin is involved in the nucleocapture complex to induce poly(I:C)-mediated TLR3 activation. *J. Biol. Chem.* 286: 10702-10711.
 8. Oshiumi, H. M. Miyashita, N. Inoue, M. Okabe, M. Matsumoto, and T. Seya. 2010. The ubiquitin ligase Riplet is essential for RIG-I-dependent innate immune responses to RNA virus infection. *Cell Host & Microbe* 8: 496-509.
 9. Ebihara, T., M. Azuma, H. Oshiumi, J. Kasamatsu, K. Iwabuchi, K. Matsumoto, H. Saito, T. Taniguchi, M. Matsumoto, and T. Seya. 2010. Identification of a poly I:C-inducible membrane protein that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation. *J. Exp. Med.* 207:2675-2687.
 10. Tatematsu M., A. Ishii, H. Oshiumi, M. Horiuchi, F. Inagaki, T. Seya, and M. Matsumoto. 2010. A molecular mechanism for Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor molecule-1-mediated IRF-3 activation. *J. Biol. Chem.* 285:20128-20136.
 11. Iwakiri, D., L. Zhou, M Samanta, M. Matsumoto, T. Ebihara, T. Seya, S. Imai, M. Fujieda, K. Kawa, and K. Takada. 2009. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded small RNA is released from EBV-infected cells and activates signaling from toll-like receptor 3. *J. Exp. Med.* 206: 2091-2099.
 12. Oshiumi, H., M. Matsumoto, S. Hatakeyama, and T. Seya. 2009. Riplet/RNF135, a RING-finger protein, ubiquitinates RIG-I to promote interferon- β induction during the early phase of viral infection. *J. Biol. Chem.* 284: 807-817. 他 21 編
- Review
1. Matsumoto M., H. Oshiumi, and T. Seya. 2011. Antiviral responses induced by the TLR3 pathway. *Rev. Med. Virol.* 21: 67-77.
 2. Seya T., H. Shime, T. Ebihara, H. Oshiumi, and M. Matsumoto. 2010. Pattern recognition receptors of innate immunity and their application to tumor immunotherapy. *Cancer Sci.* 101: 313-320.
 3. Seya T., and M. Matsumoto. 2009. The extrinsic RNA-sensing pathway for adjuvant immunotherapy of cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 58:1175-1184.
 4. Seya T., M. Matsumoto, T. Ebihara, and H. Oshiumi. 2009. Functional evolution of the TICAM-1 pathway for extrinsic RNA sensing. *Immunol. Reviews* 227: 44-53. 他 2 編
- 邦文 (査読無し)
1. 松本美佐子、押海裕之、瀬谷司、 ウイルス感染による自然免疫活性化機構、炎症と免疫 先端医学社 Vol. 20 No. 1, p. 3-8, 2012.
 2. 瀬谷 司、松本美佐子 ワクチン増強剤としての抗がん RNA アジュバントの展望 細胞 43 (3) p. 20-23, 2011.
 3. 瀬谷司、押海裕之、志馬寛明、松本美佐子 自然免疫と癌治療 実験医学 (増刊) vol. 29 No. 2, p111-118, 2011.
 4. 東 正大、松本美佐子、瀬谷司 TLR シグナルによるクロスプレゼンテーション制御機構、臨床免疫、科学評論社、54: 527-534, 2010.
 5. 瀬谷 司、松本美佐子、樹状細胞パターン認識と関連分子のがんワクチンへの応用、最新医学 61(11): 2378-2385, 2009.
 6. 瀬谷司、志馬寛明、松本美佐子、アジュバントによる樹状細胞制御の分子機構と抗腫瘍免疫 実験医学 2009 Vol. 27 No. 14 (9月号) p. 2194-2200.
 7. 松本美佐子、瀬谷司、Toll 様受容体の機能 生化学 Vol. 81 No. 3, pp. 156-164, 2009. 他 5 編
- [学会発表] (計 34 件)
1. Tatematsu, M., H. Itoh, A. Watanabe, K. Iwano, K. Funami, T. Seya and M. Matsumoto. UNC93B1 physically associates with human TLR8 and regulates TLR8-mediated signaling. 第 34 回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜、横浜)、2011. 12.15

2. Shime, H., M. Matsumoto, and T. Seya. Tumoricidal activity of tumor-associated macrophages induced by RNA adjuvant therapy. 第 40 回日本免疫学会総会・学術集会 (幕張メッセ、千葉)、2011. 11. 27-29.
3. Azuma, M., T. Ebihara, M. Matsumoto, and T. Seya. PolyI:C-induced cross-priming and antitumor CTL depends on the TICAM-1 pathway in mouse Ag-presenting cells. (同上)
4. Tatematsu, M., T. Seya, and M. Matsumoto. Virus-derived single-stranded RNA with stable secondary structure extracellularly activates Toll-like receptor 3. **International Union of Microbiological Societies 2011 Congress** (Sapporo Convention Center, Sapporo), Sep. 13, 2011.
5. Matsumoto M., Watanabe A., Seya T. Raftlin is essential for poly(I:C) cellular uptake in human myeloid dendritic cells. **Keystone symposia** (Santa Fe), 2011. 2.13-16. (Workshop)
6. Seya T., Shime H., Azuma M., Matsumoto M. RNA adjuvants that induce multiple effectors by dendritic cells for facilitating antitumor immunity. **Keystone symposia** (Santa Fe), 2011. 2.13-16.
7. Watanabe A., Seya T., Matsumoto M.: Identification of a novel protein that participates in poly(I:C) cellular uptake. **14th International Congress of Immunology** (PORTOPIA HOTEL, Kobe), 2010.8.22-27. (Workshop)
8. Tatematsu M., Seya T., Matsumoto M.: Identification of Leu194 as a key residue of Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor molecule-1-mediated IRF-3 activation. **14th International Congress of Immunology** (PORTOPIA HOTEL, Kobe), 2010.8.22-27.
9. 渡部綾子、瀬谷司、松本美佐子: Analysis of the uptake protein for double-stranded RNA、第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 (大阪国際会議場、大阪)、2009. 12. 2-4.
10. Tatematsu M., Watanabe A., Oshiumi H., Seya T., Matsumoto M.: Structural and functional analysis of TICAM-1, (同上)
他 24 件

[図書] (計 2 件)

1. 松本美佐子、他、南光堂、微生物学実践問題、2011、177.
2. 松本美佐子、他、メジカルビュー社、補体への招待、2011、231.

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称：アジュバント活性を有する新規核酸
およびその利用

発明者：松本美佐子、瀬谷司

権利者：北海道大学

種類：特許

番号：PCT/JP2011/067143

出願年月日：平成 23 年 7 月 27 日

国内外の別：国際

名称：アジュバント活性を有する新規核酸
およびその利用

発明者：松本美佐子、瀬谷司

権利者：北海道大学

種類：特許

番号：特願 2010-169407

出願年月日：平成 22 年 7 月 28 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 美佐子 (MATSUMOTO MISAKO)

北海道大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：3 0 3 3 2 4 5 6

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

瀬谷 司 (SEYA TSUKASA)

北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：1 0 3 0 1 8 0 5