

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591603

研究課題名（和文） 腫瘍制御向上を目指した高濃度アスコルビン酸併用放射線治療の研究

研究課題名（英文） The study of new radiation therapy combined with high concentration ascorbic acid as to achieve high tumor local control rate.

研究代表者

細川 洋一郎（HOSOKAWA YOICHIRO）

弘前大学・大学院保健学研究科・教授

研究者番号：70173599

研究成果の概要（和文）：

放射線治療の効果を高めることを目的に、アスコルビン酸併用放射線治療の研究を行った。白血病細胞、線維肉腫細胞、腺癌細胞、扁平上皮癌細胞の計 4 種類の癌細胞を使い、放射線照射単独とアスコルビン酸併用放射線照射の比較をすると、アスコルビン酸により細胞死が増加し、すべての細胞で、アスコルビン酸併用放射線照射群では生存率が有意に低下していた。今後、放射線にアスコルビン酸を併用することで、放射線治療の効果が高まることが期待され、臨床研究を行う必要がある。

研究成果の概要（英文）：

This study was conducted to examine the utility of the combined use of ascorbic acid (AsA) and radiation in clinical applications. AsA induced cell death and the number of living cells significantly decreased after combined X-ray irradiation and AsA treatment in comparison with that after X-ray irradiation alone in four all cell lines (HL60, HT1080, SAS, A549). This result suggested that the combined X-ray and AsA treatment was effective against cancer cells and the clinical applications should be examined in the future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、放射線科学

キーワード：アスコルビン酸、放射線治療、癌

## 1. 研究開始当初の背景

アスコルビン酸による癌治療はポーリングおよびカメロンらが30年程前に提唱した治療法だが(Cameron 1980)、当時は経口投与が一般的であり、十分な治療成績を示すことができなかった(Creagan et al., 1980)。しかし、現在、静注による高濃度の治療が可能になり、一過性ではあるが、血中で10mM程度までアスコルビン酸濃度を維持させることが可能になった(Hoffer et al.2008)。Padayattyらはアスコルビン酸を主体とした治療において、制御可能だった悪性腫瘍の3例を報告している(Padayatty et al., 2006)。アスコルビン酸は過酸化水素を産生し、OHラジカルを発生することにより癌細胞のアポトーシスを誘導する。我々は、過酸化水素と放射線の抗癌作用は基本的にはOHラジカルであるが、そのアポトーシスシグナル伝達系路が異なることを示した(Hosokawa et al., 2005)。従って、アスコルビン酸を併用することにより、照射と異なるアポトーシス系路が追加され、抗癌作用が増加すると考えられ、本研究を行なった。

## 2. 研究の目的

放射線治療は癌治療の柱の一つであり、外科手術に比較し、審美性に優れていることが良く知られているが、十分な局所制御が得られていないのが実情である。そこで、手術なしに局所制御率を向上させる試みとして、抗癌剤同時併用放射線治療が盛んに試行されているが、有害事象が強く出現する。一方、アスコルビン酸の癌治療が米国を中心に、注目を集めている。アスコルビン酸は副作用がなく、簡便に使用できる薬剤でありながら、過酸化水素を産生し、OHラジカルを発生することにより癌細胞のアポトーシスを誘導する(Duarte et al.,2007)。そこで、放射線照射に高濃度アスコルビン酸を併用することにより相乗効果をもたらし、副作用が少なく、かつ局所制御率を向上させる、新しい放射線治療が期待される。本研究は、放射線とアスコルビン酸の併用効果の機序およびその有効性を証明し、臨床応用するために行われた。

## 3. 研究の方法

### (1)培養細胞

HL60, HT1080, SAS, A549細胞を使用した。細胞は、非働化した仔牛血清(Sigma)を10%含むRPMI1640倍地(Sigma)で、37°C, 5%CO<sub>2</sub>で培養した。

### 2. X線照射(以下照射)およびアスコルビン酸処理

SOFRON BST-1500 (Sofron)を使用し、管電圧80kvp, 管電流5mA, 距離30cm, 線量率1Gy/min

で予定の線量を培養細胞に照射した。アスコルビン酸はL(+)-ascorbic acid (Sigma)をRPMI1640に100mMになるよう溶解し、NaOHで中和滴定した後、培養細胞を含む培養液に所定濃度になるよう滴下した。

### (2)生細胞数の測定

各細胞は2-3日予備培養し、細胞数を5×10<sup>5</sup>個/mLに調整し、X線照射およびアスコルビン酸処理を行った。24時間後に細胞液と2%トリパンプルー溶液を等量混和した後、血球計算板に流し1分静置後、生細胞数(非染色細胞数)を計測した。

### (3)形態学的観察

処理したHL60を、培養液ごと1500Xg10分間遠心し、上澄を捨て25%グルタルアルデヒドで固定し、0s04で固定した。アルコールで脱水、プロピレンオキシドで置換後、Epon812(TAAB)で包埋した。その試料から厚さ1μmの準超薄切片を作成し、トルイジンブルー染色を施し、光学顕微鏡で観察した。その細胞からランダムに100個を選び、アポトーシス様細胞の数を計測した。アポトーシス様細胞の基準としては1)核膜周囲に偏在するクロマチンの凝集がみられる2)濃縮した核の断片化がみられる、のいずれかの所見がみられるものとした。

### (4)アポトーシスの定量的検出

Cellular DNA fragmentation ELISA Kit

(Roche)で検出した。処理前日にbromodeoxyuridine (BrDU) (Roche)を細胞に標識し、放射線照射およびアスコルビン酸処理を行い、一定時間培養した。その後、1.5×10<sup>6</sup>個の細胞を採取し、細胞溶解液(0.05% Triton-X (Research Organics), 650μM EDTA (Research Organics))で4°C, 30分処理した後、4°C, 12000Xg, 30分間の遠沈を行い、上清100μLを試料とした。この試料を、抗BrDU抗体(Roche)をコートしたマイクロタイタープレートに移し、TMB (Roche)基質反応による発色を分光光度計(450nm)で測定した。

### (5)カスパーゼ活性の検討

Colorimetric assay kit (Bio Vision)を用い、カスパーゼ3, カスパーゼ8およびカスパーゼ9活性を各々測定した。処理細胞を6×10<sup>6</sup>個を、細胞溶解液に0°C, 10分間静置した後、4°C, 10000Xgで遠沈した。その上清をマイクロプレートに移し、各々のカスパーゼ反応試薬(DEVD-pNA, IETD-pNA, LEHD-pNA) (Bio Vision)を添加し、37°C, 2時間反応させ、分光光度計(405nm)で測定した。

また、カスパーゼ3, 8, 9の各阻害剤

(Z-DEVD-FMK, Z-IETD-FMK, Z-LEHD-FMK)

(MBL)を用い、アポトーシスに対するカスパーゼの関与を検討した。処理直前にこれら

抑制剤を、 $1\mu\text{M}$ になるよう添加し、上記のDNAの断片化および24時間後の生細胞数を計測した。

#### (6) Western blot 法によるアポトーシス関連蛋白質の検討

処理した細胞を $1\times 10^6$ 個回収し、phenylmethylsulfonyl fluoride (Research Organics) および protease inhibitor (Bio Vision) を含む細胞溶解液  $500\mu\text{L}$  (210mM sucrose(Wako), 70mM mannitol (Wako), 10mM

HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) (Research Organics), 1mM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) (Research Organics), 1mM

PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride) (Research Organics),  $5\mu\text{g/ml}$  leupeptin (Bio Vision),  $5\mu\text{g/ml}$  asrotinin (Bio

Vision),  $0.7\mu\text{g/ml}$  pepstatin (Bio Vision) ) に入懸濁し、ソニケーターで細胞を破砕した後、 $800\text{Xg}$  で遠心し細胞片を除去、さらに  $1000\text{Xg}$  で遠心し細胞核を除去した。次に  $4^\circ\text{C}$ ,  $10000\text{Xg}$  で 10 分遠心し、ミトコンドリア膜分画を採取し、さらに  $4^\circ\text{C}$ ,  $100000\text{Xg}$  で 20 分遠心し、細胞質分画を得た。これら得られた試料を、10%SDS-PAGE (Research Organics) を用いて電気泳動を行い、polyvinylidene difluoride 膜 (タカラ) に転写し、Block Ace (大日本製薬) でブロッキングした。その後、一次抗体 (Pharmigen, Sigma) を室温で 2 時間反応させて 0.05 % Tween-20 (Sigma) 添加 PBS で洗浄し、horseradish peroxidase 標識抗ヒツジ抗体 (Amersham) を室温で 1 時間反応させて ECL (enhanced chemiluminescence) 法によって検出した。

#### (7) 統計処理

実験結果の平均値に統計学的に差があるか検定を行った。はじめに F 検定により分散が等しいか検定を行い、等しい場合は学生 t 検定、等しくない場合はウェルチの t 検定を行い、危険率 5% ( $p<5\%$ ) で検定結果を示した。

### 4. 研究成果

#### (1) 研究のおもな成果

##### ① X線照射単独とアスコルビン酸単独の細胞死

併用効果を検討する前に、X線照射単独とアスコルビン酸単独の細胞死について検討した。X線照射単独では線量を、アスコルビン酸単独では濃度を変化させ、24時間後の生細胞と6時間後のDNA断片化を検討した。HL60による結果によるとX線照射単独では、線量依存的に生細胞数は減少しDNA断片化は増加した。一方、アスコルビン酸単独では濃度依存的に生細胞数は減少したが、DNA断片

化は濃度依存的に増加したが5mMを境に逆に減少した。準超薄切片によるHL60の形態変化では、アスコルビン酸5mMでは、核周囲にクロマチンが偏在するものや、核の断片化等、アポトーシス特有の形態変化を示した。一方、アスコルビン酸20mMでは、細胞膜が不鮮明で、細胞質に不規則な空胞を持つ細胞が多く見られた。アポトーシス様細胞の計測によると、X線単独では10Gyまでアポトーシス様細胞が多く見られた。アスコルビン酸単独では濃度5mMではアポトーシス様細胞が多くみられたが、20mMではほとんどみられなかった。統計学的にもX線2Gy照射、X線10Gy照射、アスコルビン酸濃度5mMでは、対照と比較して有意差 ( $p<5\%$ ) があったが、20mMではなかった。

##### ②アスコルビン酸併用X線照射における細胞死およびDNA断片化

HL60細胞にけるX線照射単独(2Gy)、アスコルビン酸単独(5mM)、およびアスコルビン酸併用X線照射(2Gy+5mM)の生細胞数およびDNA断片化の経時的变化を検討した。X線照射単独およびアスコルビン酸単独と比較して、アスコルビン酸併用X線照射では生細胞数は減少した(図1)。統計的にX線照射単独とアスコルビン酸併用X線照射の比較、アスコルビン酸単独とアスコルビン酸併用X線照射の比較では両者ともに有意な差がみられた。 ( $p<5\%$ ) HT1080, SAS, A549においても同じ実験を行なったところ、同様の結果だった。また、X線照射単独と比較し、アスコルビン酸併用X線照射でDNA断片化が多く認められた。また、DNA断片化のピークは、いずれも処理8時間後から10時間後にかけてみられたが、アスコルビン酸を併用することで早期にDNA断片化が生じる傾向があった。

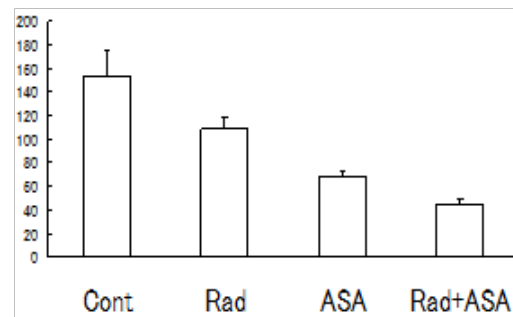


図1 X線照射併用アスコルビン酸処理後の生細胞数

X線照射単独と比較して、X線照射併用アスコルビン酸処理後の生細胞数は減少し、統計的に有意な差がみられた。 ( $p<5\%$ ) (Cont=対照群, Rad=X線単独照射2Gy, ASA=アスコルビン酸単独処理5mM, Rad+ASA=X線照射2Gy併用アスコルビン酸処理5mM)

##### ③カスパーゼ活性およびアポトーシス関連蛋白質

Colorimetric assay kit 用いた, HL60 細胞内のカスパーゼ活性の経時的測定をおこなった. カスパーゼ 3 活性, カスパーゼ 8 活性, カスパーゼ 9 活性のすべてにおいて, アスコルビン酸併用 X 線照射が最も高い値を示した. また, すべての処理で, カスパーゼ 3 およびカスパーゼ 9 活性は経時的に上昇したが, カスパーゼ 8 活性は, アスコルビン酸単独とアスコルビン酸併用 X 線照射で上昇がみられたが, X 線照射単独では顕著な上昇はみられなかった.

カスパーゼ 3, カスパーゼ 8, カスパーゼ 9 の阻害剤を添加した場合の, 10 時間後の DNA 断片化の検討を行ったところ. カスパーゼ 3 の阻害剤添加, およびカスパーゼ 9 の阻害剤添加の場合は, すべての処理細胞で DNA 断片化が減少した(図 2). しかし, カスパーゼ 8 阻害剤を加えたところ, アスコルビン酸単独とアスコルビン酸併用 X 線照射で DNA 断片化が減少するものの, X 線照射単独における DNA 断片化は変化を認めなかった. 統計学的にも X 線照射単独にカスパーゼ 8 阻害剤した場合の DNA 断片化と, X 線照射単独の DNA 断片化とは差はみられなかった.

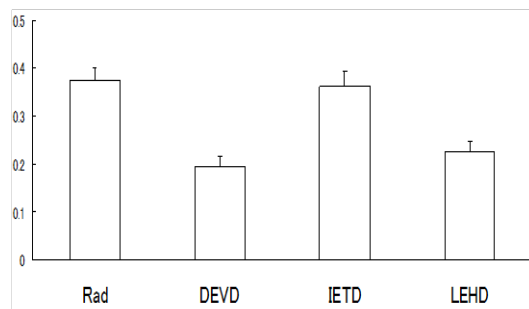


図 2-a X 線照射単独 (2Gy) におけるカスパーゼ阻害剤を使用した場合の DNA 断片化

カスパーゼ 3 阻害剤 (DEVD) 添加およびカスパーゼ 9 阻害剤 (LEHD) 添加の場合は添加しない場合に比較して, DNA 断片化が有意に減少 ( $p < 5\%$ ) したがカスパーゼ 8 阻害剤 (IETD) を添加しても減少しなかった.

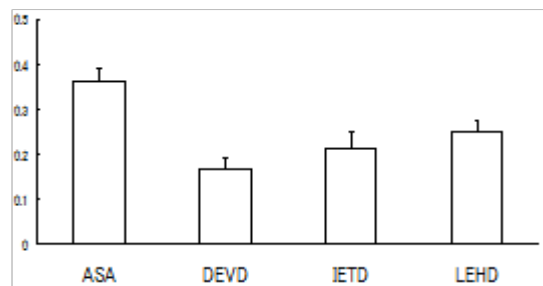


図 2-b アスコルビン酸単独 (5mM) におけるカスパーゼ阻害剤を使用した場合の DNA 断片化

カスパーゼ 3 阻害剤 (DEVD), カスパーゼ 8 阻害剤 (IETD), カスパーゼ 9 阻害剤 (LEHD) を

添加の場合は, 添加しない場合に比較して, すべて DNA 断片化が有意に減少 ( $p < 5\%$ ) した.

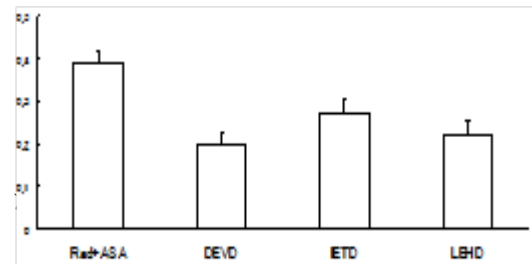


図 2-c アスコルビン酸併用 X 線照射 (2Gy+5mM) におけるカスパーゼ阻害剤を使用した場合の DNA 断片化

カスパーゼ 3 阻害剤 (DEVD), カスパーゼ 8 阻害剤 (IETD), カスパーゼ 9 阻害剤 (LEHD) を添加の場合は, 添加しない場合に比較して, すべて DNA 断片化が有意に減少 ( $p < 5\%$ ) した.

処理 6 時間後の細胞より抽出した分画の, ウェスタンブロットの結果を図 3 に示す. 対照に比較し, 処理細胞では, 細胞質分画にチトクローム C の流出が認められ, 逆に, ミトコンドリア膜分画では, すべての処理細胞でチトクローム C が減少してした. Bax では, アスコルビン酸単独とアスコルビン酸併用 X 線照射では, ミトコンドリア膜分画における Bax の増加がみられたが, X 線照射単独では顕著な増加は見られなかった. 一方, Bid については対照に比較して, 各処理とも大きな違いはみられなかった.

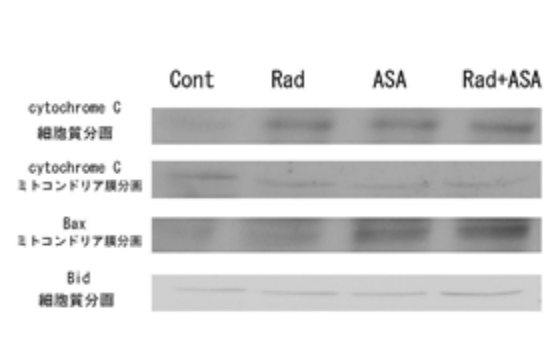


図 3 ウェスタンブロットによるアポトーシス関連蛋白の発現

対照に比較し, 処理細胞では, 細胞質分画にチトクローム C の流出が認められ, 逆に, ミトコンドリア膜分画では, すべての処理細胞でチトクローム C が減少していた. Bax では, アスコルビン酸単独とアスコルビン酸併用 X 線照射で Bax の増加がみられたが, X 線照射単独では顕著な増加は見られなかった. Bid の発現に増減はみられなかった. (Cont=対照群, Rad=X 線単独照射 2 Gy, ASA=アスコルビン酸単独処理 5mM, Rad+ASA=アスコルビン酸併用 5mM+X 線照射 2Gy)

以上、結果を示したように本件研究ではアスコルビン酸と放射線の併用の作用機序をHL60細胞を中心に検索した。まず、アポトーシスの最終段階はDNAの断片化であり、照射単独とアスコルビン酸単独処理およびアスコルビン酸併用照射処理DNA断片化のピーク時間を検討した。その結果、いずれも処理8時間後から10時間後であった。そこで、処理10時間以前のアポトーシスの初期シグナル伝達に注目し、カスパーゼ活性およびアポトーシス関連蛋白を検討した。

カスパーゼ活性を測定すると、アスコルビン酸処理を施した場合、カスパーゼ3活性、カスパーゼ8活性、カスパーゼ9活性のすべてにおいて上昇した。この場合、カスパーゼ8活性、カスパーゼ9活性は比較的早期に活性上昇が見られたのに対し、カスパーゼ3は比較的後期に上昇した。カスパーゼ8およびカスパーゼ9は、実行カスパーゼを活性化するイニシエーターカスパーゼであり、一方、カスパーゼ3は最終的にDNA断片化を誘導する実行カスパーゼであることから、今回の結果は妥当である (Brown et al., 2008)。しかしX線照射単独では、カスパーゼ9およびカスパーゼ3の活性が上昇したが、カスパーゼ8活性の顕著な上昇はみられなかった。また、カスパーゼ8阻害剤を加えたところ、アスコルビン酸処理の場合はDNA断片化が減少するものの、X線照射単独ではDNA断片化に変化を認めなかった。以上の結果は、アスコルビン酸誘導アポトーシスはカスパーゼ3、カスパーゼ8、カスパーゼ9を通過するのに対し、X線照射単独誘導アポトーシスではカスパーゼ3、カスパーゼ9は関わるが、カスパーゼ8関連の伝達経路を初期においては通過しないと考えられる。

実行カスパーゼの活性化やその基質であるPARP (poly[ADP-ribose]polymelase) の断片化は、ミトコンドリアからチトクロームCの放出の経路の下流で誘導され、その調節にBaxが関与していることが知られている (Moritake et al., 2002)。そのチトクロームCはApaf-1 (apoptosis protease-activation factor-1) と結合し、Apaf-1-cytochrome c複合体を形成しカスパーゼ9を活性化すると考えられている (Wolf and Green, 1999) (Slee et al., 1999)。今回のウエスタンブロットの結果でも、対照に比較し、処理細胞では、細胞質分画にチトクロームCの流出が認められ、逆に、ミトコンドリア膜分画では、すべての処理細胞でチトクロームCが減少していた。これはX線照射でもアスコルビン酸の処理でも、チトクロームCが細胞質に流出し、その後、カスパーゼ9が上昇していた。また、アスコルビン酸単独処理とアスコルビン酸併用照射では、ミト

コンドリア膜分画におけるBaxの増加がみられたが、X線照射単独では顕著な発現は見られなかった。これは照射単独のアポトーシスには、Baxが関わっていないことを示している。一方、Bidは細胞外からのアポトーシス誘導を補完、増強をし、特にカスパーゼ8によって分解され、その断片がミトコンドリアからチトクロームCを流出するとされている (Li et al., 1998)。今回の研究では対照に比較して、初期にBidの発現はみられなかった。BaxおよびBidとともに、ミトコンドリア膜の透過性を上昇させることにより、チトクロームCを流出させ、アポトーシスを誘導すると考えられており、かつてはその両者が相互作用をしていると考えられていたが、最近の報告では、独立しているとの報告もあり、今後、研究が必要な領域であろう (Desagher et al., 1999) (Wu et al., 2007)。

以上、本研究より、X線照射にアスコルビン酸処理を加えると、X線照射単独に比較して、HL60、HT1080、SAS、A549細胞の生存率が減少した。特にHL60のアポトーシスが增加することが確認され、そのアポトーシス誘導経路については、X線照射にアスコルビン酸処理でBaxの関与およびカスパーゼ8の経路が異なっており、X線照射とアスコルビン酸処理の併用により経路の増加が起りアポトーシスを増強していると考えられた。本実験のアスコルビン酸濃度は、人体に投与した場合でも重篤な副作用が生じないことが臨床的に確認されており、今後、臨床応用の可能性を検討すべきであると思われる。

## (2) 得られた成果の国内外の位置とインパクト

国内外にかかわらず、がん細胞死のためにアスコルビン酸を放射線に併用する研究はまだみられない。アスコルビン酸は抗酸化剤でもあり、放射線照射が誘発するOHラジカルを消去するため、アスコルビン酸が放射線の効果を減弱させるという解釈が存在し、アスコルビン酸併用放射線療法は一般化していない (Povovtzer et al., 2008)。しかし我々は今回の研究で、アスコルビン酸により放射線誘発アポトーシスが增加することを示した。本研究の論文を英文で発表し、この件について各学会で質問を受けたことから、注目されていると考えている。

## (3) 今後の展望

我々は以上の基礎研究をふまえ、最終年度には、臨床研究に向けて動物実験をおこなった。マウスにHT1080細胞を移植し、その腫瘍部に放射線照射単独とアスコルビン酸併用放射線治療を行なったところ、アスコルビン酸併用放射線治療のほうが腫瘍塊は縮小し腫瘍重量が低かった。临床上アスコルビン酸

は副作用がなく、安全に併用できることから、以上の結果からも実地に向けた、臨床研究がなされるべきである。しかし、アスコルビン酸は既に存在する薬剤でもあり、開発の新規性がないことから利益に結びつきにくく、臨床試験の実施についてはこの点が障害となっている。このように企業に利益があまり生じない薬剤であっても、臨床試験を可能にする仕組みを検討することも期待したい。

#### 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 15 件)

- ① Hazawa M, Hosokawa Y, Monzen S, Yoshino H, Kashiwakura I. Regulation of DNA damage response and cell cycle in radiation-resistant HL60 myeloid leukemia cells. 査読あり PLoS One. 2012; 6(11): e27761. Epub 2012 Nov 16.
- ② Koji Shinozaki, Yoichiro Hosokawa, Masakatsu Hazasa, Ikuo Kashiwakura, Kazuhiko Okumura, Tohru Kaku, Eiji Nakayama. Ascorbic Acid Enhances Radiation-induced Apoptosis in an HL60 Human Leukemia Cell Line. 査読あり J Radiat Res. 2011. 52:229-237.
- ③ Chai H, Hazawa M, Shirai N, Igarashi J, Takahashi K, Hosokawa Y, Suga H, Kashiwakura I. Functional properties of synthetic N-acyl-L-homoserine lactone analogs of quorum-sensing gram-negative bacteria on the growth of human oral squamous carcinoma cells. 査読あり Invest New Drugs. 2012 Feb;30(1):157-63. Epub 2010 Sep 28.
- ④ 最近の放射線治療の動向：定位放射線治療と寡分割照射について. 細川洋一郎. 査読なし 2010. ESI-NEWS 28(4)151-155.
- ⑤ 頭頸部扁平上皮癌における放射線化学併用両方と最近の動向. 細川洋一郎. 査読なし. 2010. 放射線生物研究 45 (2) 183-199.

[学会発表] (計 13 件)

- ① Shingo Terashima, Yoichiro Hosokawa, Ikuo Kashiwakura, Toshiya Nakamura. Effect of ascorbic acid and X-ray on human leukemia HL60 cells and the role of the reactive oxygen species. International symposium on the natural radiation exposures and low dose radiation epidemiological studies. March 3<sup>rd</sup>.2012. Hirosaki.
- ② Yoichiro Hosokawa, Kazuhiko Okumura, Shingo Terashima,

Yasunori Sakakura International symposium on the natural radiation exposures and low dose radiation epidemiological studies. March 3<sup>rd</sup>.2012. Hirosaki.

- ③ 寺島真悟, 細川洋一郎, 柏倉幾郎. HL60 に対するアスコルビン酸と X 線の効果と活性酸素種に関する研究. 日本放射線影響学会第 54 回大会. 2011 年 11 月 17 日. 神戸.
- ④ Yoichiro Hosokawa, Satoru Monzen, Ikuo Kashiwakura. Ascorbic Acid Enhanced Apoptosis of Human Leukemia HL60 Cells on Radiation. 14th International Congress of Radiation Research. Sep.1<sup>st</sup>.2011. Warsaw, Poland.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

[http://www.hs.hirosaki-u.ac.jp/kouhou/hokengaku/cms/index.cgi/kenkyu/r\\_housha/65](http://www.hs.hirosaki-u.ac.jp/kouhou/hokengaku/cms/index.cgi/kenkyu/r_housha/65)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

細川 洋一郎 (HOSOKAWA YOICHIRO)  
弘前大学・大学院保健学研究科・教授  
研究者番号：70173599

(3) 連携研究者

門前 暁 (MONNOZEN SATORU)  
弘前大学・大学院保健学研究科・助教  
研究者番号：20514136

寺嶋 真悟 (TERASHIMA SHINGO)

弘前大学・大学院保健学研究科・助教  
研究者番号：00583733

羽澤 勝治 (HAZAWA MASAKATSU)

放射線医学総合研究所・緊急被ばく医療研究センター・博士研究員  
研究者番号：40622460

吉野 浩教 (YOSHINO HIRONORI)

弘前大学・大学院保健学研究科・助教  
研究者番号：10583734