

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08697

研究課題名(和文)肝虚血再灌流障害に対するセンスオリゴヌクレオチドを用いた新規核酸医薬の開発研究

研究課題名(英文) Research to develop sense oligonucleotides as novel nucleic acid drugs for hepatic ischemia-reperfusion injury

研究代表者

奥山 哲矢 (OKUYAMA, Tetsuya)

関西医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：80614966

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：肝虚血再灌流障害(HIRI)が拡大肝切除や肝移植の術後合併症の原因として問題となる。

肝切除を伴うラットHIRIモデルでは、誘導型一酸化窒素合成酵素のアンチセンス転写物(iNOS-AS)に作用する機能性食品・薬剤が抗炎症効果を示して肝障害を緩和した。さらに、HIRIによって肝組織で誘導された遺伝子の中から核酸医薬センスオリゴを設計し肝保護作用の解析を進めた。

ラット肝移植モデルでは、肝組織で炎症性サイトカイン・ケモカインや抗酸化、ヒートショック関連の抗ストレス性遺伝子の発現が有意に変動した。iNOS-ASに対するセンスオリゴ投与は、iNOS mRNA発現や灌流液の肝逸脱酵素活性を低下させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

術後合併症の原因として問題となるHIRIには、一酸化窒素(NO)や腫瘍壊死因子などの炎症メディエーターが関与する。関連する遺伝子の発現を調節することが、障害の根本的治療に重要である。NO合成酵素のiNOS発現は、ASを介する新規機序により調節される。本研究では、HIRIモデルでiNOS-ASに作用するiNOSセンスオリゴおよび機能性食品・薬剤が肝障害を緩和した。iNOS-ASを介したiNOSセンスオリゴが障害抑制に有効性であることが示された。他の遺伝子に対するセンスオリゴについても解析し、詳細な肝保護効果の分子機序を解明できれば、HIRIを根本的に治療する核酸医薬の開発に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Hepatic ischemia-reperfusion injury (HIRI) is a problematic cause of postoperative complications after extensive liver resection and liver transplantation.

(1) In the rat model of HIRI with hepatectomy, functional foods and drugs acting on the antisense transcript of induced nitric oxide synthase (iNOS-AS) showed anti-inflammatory effects and ameliorated liver injury. In addition, we designed a nucleic acid drug, a sense oligonucleotide, from the gene induced in the liver by HIRI and proceeded to analyze its hepatoprotective effects.

(2) In the rat liver transplantation model, the expression of inflammatory cytokines/chemokines, antioxidant, heat shock, and anti-stress genes in the liver was significantly altered. iNOS sense oligonucleotide treatment reduced iNOS mRNA expression and hepatic enzyme activity of the perfusate.

研究分野：分子生物学

キーワード：センスオリゴ 核酸医薬 肝虚血再灌流障害 炎症メディエーター アンチセンス転写物 誘導型一酸化窒素合成酵素

1. 研究開始当初の背景

肝切除術や肝移植術で、血流が遮断され虚血状態に陥った肝臓に血流が再開された後には、肝虚血再灌流障害 (HIRI) が誘導される。重篤な術後合併症を引き起こす原因となり非常に問題となる。これらの病態には、炎症性メディエーターである一酸化窒素 (NO) や腫瘍壊死因子 (TNF- α) の産生亢進が要因の一つとされている。炎症刺激により誘導される誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) や TNF- α 遺伝子には、相補的なアンチセンス転写物 (AS) が発現しており mRNA の安定性に重要な役割を果たす [Matsui K ら. 2008; Yoshigai E ら. 2013; Yoshigai E ら. 2014]。AS を介する遺伝子発現制御はまったく新規のメカニズムである。AS は多くの遺伝子から発現し、敗血症を起こしたラットやヒト組織において発現が誘導される [Yoshigai E ら. 2012; Nishizawa M ら. RNA & Disease 2016]。ラット初代培養肝細胞において、iNOS-AS に相補的な配列、即ち mRNA (センス鎖) と同じ配列を持つセンスオリゴヌクレオチド (センスオリゴ) は、細胞内で mRNA 分解を促進する [Matsui K ら. 2008]。さらに肝障害敗血症モデルラット (ガラクトサミンおよび細菌内毒素 LPS 処理) に iNOS センスオリゴを投与すると、肝臓内の iNOS や TNF- α mRNA 発現が減少し、肝病理所見が改善、生存率が増加した [Okuyama T ら. 2018]。障害の関連遺伝子に対するセンスオリゴを用いることにより、HIRI を遺伝子発現レベルから根本的な治療を可能とする、新規の核酸医薬の開発が可能であることが考えられた。

2. 研究の目的

mRNA の安定性に寄与する AS は、様々な遺伝子から発現している。センスオリゴは、AS を介して標的の遺伝子発現を調節できる新規核酸医薬として注目を集めている [Nishizawa M, Okuyama T, Nakatake R. 2022; 中竹、奥山、西澤. 2023]。虚血再灌流後の肝臓では、iNOS や TNF- α などを含め肝障害の発生・悪化に関する遺伝子の発現が変動する。これらの発現変動を適切に調節できれば、肝保護効果が期待され肝虚血再灌流障害の治療に大きく寄与すると考えられる。肝虚血再灌流障害ラットモデルを構築し、障害後に発現変動して障害に関連する遺伝子を同定し、その AS の発現を確認する。AS を介する mRNA 発現の調節機構を標的とするセンスオリゴの保護作用を検証する。根本的な HIRI の治療につながる、核酸医薬を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ラット間欠的肝流入血流遮断および肝切除 (PM+PH) モデル

肝切除術では、肝実質切離中の出血を制御する目的で間欠的肝流入血流遮断 (Pringle maneuver: PM) が繰り返される。術後の残存肝に誘導される HIRI について以下の動物実験モデルを作製した。オス Sprague Dawley ラットを麻酔下で開腹し、門脈をクリップで挟み血流を遮断した。

15 分間の肝虚血状態のあと、肝臓の 70% にあたる肝葉を結紮して切離した。門脈のクリップを除いて血流を解放し、残存肝葉に HIRI を誘導した。血流解放の 3, 6, 24 時間後に血液および肝臓をサンプリングし、各手法で解析した。

HIRI による致死効果への影響を検討するため、肝虚血状態を 30 分間に延長した。70% 肝切除し血流を解放してから 168 時間後までラットの生存をモニターした。

センスオリゴは、生理的食塩水に溶解して虚血後の肝切除直前に陰茎静脈に投与した。肝保護効果を有する天然植物成分 sulforaphane (SFN) および baicalein (BAE) は施術前に腹腔内に投与し、機能性食品 *Lentinula edodes* 菌糸体培養抽出物 (ECLM, AHCC®) は施術前 10 日間混餌で摂取させた。

なお動物実験計画は関西医科大学動物実験委員会にて承認され、法令およびガイドライン等に従って実施した。

(2) Isolated Perfused Rat Liver (IPRL) 装置を用いた肝移植 *ex vivo* モデル

オス Wistar ラットから摘出した全肝を 4°C の臓器保存液 (Histidine-tryptophan-ketoglutarate; HTK) に浸して、1 または 24 時間単純虚血冷保存 (CS) した。次に 24°C での 5 分間温虚血状態 (ヒト手術における脈管吻合にかかる時間を模倣) の後に、37°C の生理的緩衝液 (Krebs-Henseleit bicarbonate Buffer; KHB 液) を 3 ml/分/肝重量の速度で 5-120 分間灌流させて、冷虚血/温再還流障害を誘導した。肝臓における遺伝子発現および灌流液中のマーカーを解析した。センスオリゴは門脈から灌流液に投与した。

(3) ラット初代培養肝細胞を用いた解析

オス Wistar ラットの肝臓からコラゲナーゼ灌流法により初代培養肝細胞を調製した。培地に薬剤 SFN または BAE を添加し、IL-1 β の炎症刺激下における関連因子への影響を解析した。関西医科大学動物実験委員会および立命館大学 BKC 実験動物委員会にて承認され、法令および

ガイドライン等に従って実施した。

(4) センスオリゴの設計・培養細胞への導入

mRNA の 3'非翻訳領域 (3'UTR) の二次構造を予測して、種間で保存された配列を基にセンスオリゴを各種デザインし合成した[Yoshigai E ら. 2013; Yoshigai E ら. 2014]。センスオリゴは MATra-A 試薬 (IBA 社) により初代培養肝細胞に導入した[Matsui K ら. 2008]。

4. 研究成果

(1) HIRI モデル構築の検証と薬剤の肝保護効果の検討

PM+PH モデルの肝組織では、類洞の鬱血や肝細胞空胞化および壊死を特徴とする肝障害が誘導されており、好中球浸潤および肝細胞のアポトーシスが促進された。血中では肝逸脱酵素活性や NO 量が増加した。また、肝組織で炎症に関連する遺伝子の発現が上昇し、それら mRNA の転写を制御する NF- κ B も活性化された。

(i) iNOS センスオリゴの適応拡大

構築した PM+PH モデルにおいて、AS による遺伝子調節が障害に関与するか、または治療効果の標的となりうるか検証するため、センスオリゴ投与の前段階実験として iNOS-AS の発現を調節し抗炎症作用を持つ機能性食品や成分の HIRI に対する作用やその作用機序を検討した。

機能性食品 ECLM は初代培養肝細胞で iNOS-AS 発現の抑制を介して iNOS 遺伝子発現を抑制し、敗血症肝障害モデルラットで抗炎症効果や肝保護効果を示す[Matsui K ら. 2007; Nakatake R. 2016]。PM+PH モデルラットに ECLM を投与すると、肝障害が緩和され抗炎症効果も認められた[Nakatake R, Okuyama T, Nishizawa M.ら Nutrients, 2024]。さらに ECLM は抗アポトーシス遺伝子発現を増強させ肝組織のアポトーシスを抑制した。HGF 発現も増強され 24 時間後では肝重量の増大と細胞増殖が促進された。肝再生が亢進されたことが考えられ、致死的な HIRI 条件下で生存の延長に貢献したことが示唆された。

抗酸化作用を持つブロッコリー由来成分 SFN を PM+PH モデルに投与したところ、肝障害の緩和や炎症遺伝子発現の抑制が見られた。これらは、SFN が肝臓の NF- κ B 活性化を抑制したことが部分的に関与することが考えられた [Nakatake R, Okuyama T, Nishizawa M.ら Int J Mol Sci, 2024]。SFN も致死的な HIRI に生存率を改善した。初代培養肝細胞では iNOS mRNA 安定化を阻害したため、SFN は iNOS-AS を介する発現調節に影響することが示唆された。

肝炎や黄疸に用いられる 生薬オウゴンの主要成分 BAE 投与では、肝障害緩和、炎症遺伝子発現抑制に加えて、3 時間後の肝肥大が抑制された。再灌流による血流増加が減弱されたと予想された[Okuyama T, Nakatake R, Nishizawa M.ら Mol Biol Rep, 2024]。初代培養肝細胞では、BAE によって iNOS-AS 発現誘導が抑制され、iNOS mRNA 分解が促進された。これらは、部分的に NF- κ B と IL1 受容体発現を制御する Akt の 2 つのシグナル伝達経路を抑制することで、BAE が抗炎症効果および肝保護効果を示すことが示唆された。

これら機能性食品・成分の HIRI に対する抗炎症作用や肝保護作用は、iNOS-AS 発現の抑制による iNOS 遺伝子発現調節に部分的に関連しており、iNOS-AS を標的とするセンスオリゴが HIRI の治療・予防に有効である可能性を示し、現在 iNOS センスオリゴの効果検討を行っている。

(ii) 新たなセンスオリゴの探索

HIRI に関する動物モデルを用いた研究論文のシステマティックレビューにより、HIRI の病態や治療における iNOS mRNA 発現の重要性を明らかにした[Nakatake R ら. 2022]。しかしながら、HIRI の病態には、iNOS や NO 以外の因子の関与も考えられた。HIRI の病態に関与し、新規のセンスオリゴの標的となり得る遺伝子の候補を探索するため、PM+PH モデルの肝臓における mRNA 発現をマイクロアレイにより網羅的に解析した。その結果、血管拡張や炎症、免疫抑制に関わる物質の代謝経路を構成する遺伝子群の発現が変動していた。代謝経路の律速酵素である遺伝子 A に着目して、A のアンチセンス転写物に対するセンスオリゴ X を設計した。ラット初代培養肝細胞に導入して、A の mRNA 発現に与える影響を RT-PCR 法で検討した。また、PM+PH モデルでは mRNA 発現が誘導されており、センスオリゴ X を投与して肝保護作用の解析を進めている。

(2) IPRL 装置での iNOS センスオリゴの効果

単純虚血冷保存した肝臓において、mRNA マイクロアレイ解析の結果、iNOS mRNA 発現が増加していた。iNOS センスオリゴを IPRL 装置に投薬する候補とした。

IPRL 装置に KHB 液を灌流させると、KHB 液中の肝逸脱酵素 AST、ALT および LDH 活性が増加した。iNOS センスオリゴを投与したところ、これら酵素活性は有意に減少もしくは減少傾向を示した。一方で、胆汁産生は増加傾向を示したため、iNOS センスオリゴの肝保護・肝機能改善効果が明らかになった。

また、再灌流後の肝臓において、mRNA マイクロアレイ解析により多くの炎症性サイトカイン・ケモカインや抗酸化、ヒートショック関連の抗ストレス性遺伝子が有意な発現変動を示した。これら遺伝子のうち、iNOS センスオリゴによって炎症関連サイトカインや骨形成等発生に関わるキナーゼ、金属膜輸送タンパク質などの遺伝子発現が低下し、熱ショックタンパク質やエネルギー代謝関連酵素などの発現が増加した。さらに、RT-PCR 法を用いてセンスオリゴが iNOS mRNA 発現を抑制することが分かった。

以上のように、今後 PM+PH モデルおよび IPRL 装置への iNOS や新規センスオリゴ投与の効果について詳細な解析を進める。肝保護効果の分子機序を解明し、センスオリゴの有効性を確立することで、肝虚血再灌流障害を根本的に治療する核酸医薬開発を目指す。

参考文献

Matsui K, Nishizawa M, Ozaki T, Kimura T, Hashimoto I, Yamada M, Kaibori M, Kamiyama Y, Ito S, Okumura T. Natural antisense transcript stabilizes inducible nitric oxide synthase messenger RNA in rat hepatocytes. *Hepatology* 47: 686–697 (2008) DOI:10.1002/hep.22036

Yoshigai E, Hara T, Araki Y, Tanaka Y, Oishi M, Tokuhara K, Kaibori M, Okumura T, Kwon AH, Nishizawa M. Natural antisense transcript-targeted regulation of inducible nitric oxide synthase mRNA levels. *Nitric Oxide* 30: 9–16 (2013) DOI:10.1016/j.niox.2013.01.001

Yoshigai E, Hara T, Inaba H, Hashimoto I, Tanaka Y, Kaibori M, Kimura T, Okumura T, Kwon AH, Nishizawa M. Interleukin-1 β induces tumor necrosis factor- α secretion from rat hepatocytes. *Hepatol Res* 44: 571–583 (2014) DOI:10.1111/hepr.12157

Yoshigai E, Hara T, Okuyama T, Okumura T, Kaibori M, Kwon AH, Nishizawa M. Characterization of natural antisense transcripts expressed from interleukin 1 β -inducible genes in rat hepatocytes. *HOAJ Biology* 1: 10 (2012) DOI:10.7243/2050-0874-1-10

Nishizawa M, Kimura T. RNA networks that regulate mRNA expression and their potential as drug targets. *RNA & Disease* 3: e864 (2016) DOI:10.14800/rd.864

Okuyama T, Nakatake R, Kaibori M, Okumura T, Kon M, Nishizawa M. A sense oligonucleotide to inducible nitric oxide synthase mRNA increases the survival rate of rats in septic shock. *Nitric Oxide* 72: 32–40. (2018) DOI:10.1016/j.niox.2017.11.003

Nishizawa M, Okuyama T, Nakatake R. ‘The natural antisense transcript-targeted regulation technology using sense oligonucleotides and its application’. *Oligonucleotides - Overview and Applications*. *IntechOpen* (2022) DOI:10.5772/intechopen.108281

中竹、奥山、西澤. ‘第 11 節 アンチセンス転写物を標的としたセンスオリゴヌクレオチドの核酸医薬創薬への活用’ mRNA の制御機構の解明と治療薬・ワクチンへの活用技術情報協会 ISBN:978-4-86104-937-8

Matsui K, Kawaguchi Y, Ozaki T, Tokuhara K, Tanaka H, Kaibori M, Matsui Y, Kamiyama Y, Wakame K, Miura T, Nishizawa M, Okumura T. Effect of active hexose correlated compound on the production of nitric oxide in hepatocytes. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 31: 373–380. (2007) DOI:10.1177/0148607107031005373

Nakatake R, Tanaka Y, Ueyama Y, Miki H, Ishizaki M, Matsui K, Kaibori M, Okumura T, Nishizawa M, Kon M. Protective effects of active hexose correlated compound in a rat model of liver injury after hepatectomy. *Funct Foods Health Dis* 6: 702–717. (2016) DOI:10.31989/ffhd.v6i11.305

Nakatake R, Okuyama T, Ishizaki M, Yanagida H, Kitade H, Yoshizawa K, Nishizawa M, Sekimoto M. Hepatoprotection of a standardized extract of cultured *Lentinula edodes* mycelia against liver injury induced by ischemia-reperfusion and partial hepatectomy. *Nutrients* 16:256. (2024) DOI:10.3390/nu16020256

Nakatake R, Okuyama T, Hashimoto Y, Ishizaki M, Yanagida H, Kitade H, Yoshizawa K, Nishizawa M, Sekimoto M. Sulforaphane is protective against warm ischemia/reperfusion injury and partial

hepatectomy in rats. *Int J Mol Sci* 25:579. (2024) DOI:10.3390/ijms25010579

Okuyama T, Nakatake R, Ito K, Ishizaki M, Yanagida H, Kitade H, Yoshizawa K, Ikeya Y, Nishizawa M, Sekimoto M. Hepatoprotective effects of baicalein against liver ischemia-reperfusion injury and partial hepatectomy in a rat model. *Mol Biol Rep* 51:643. (2024) DOI:10.1007/s11033-024-09548-9

Nakatake R, Schulz M, Kalvelage C, Benstoem C, Tolba RH. Effects of iNOS in hepatic warm ischaemia and reperfusion models in mice and rats: A systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci* 23:11916. (2022) DOI:10.3390/ijms231911916

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Nakatake Richi, Okuyama Tetsuya, Ishizaki Morihiko, Yanagida Hidesuke, Kitade Hiroaki, Yoshizawa Katsuhiko, Nishizawa Mikio, Sekimoto Mitsugu	4. 巻 16
2. 論文標題 Hepatoprotection of a Standardized Extract of Cultured <i>Lentinula edodes</i> Mycelia against Liver Injury Induced by Ischemia-Reperfusion and Partial Hepatectomy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 256 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu16020256	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 Nakatake Richi, Okuyama Tetsuya, Hashimoto Yuki, Ishizaki Morihiko, Yanagida Hidesuke, Kitade Hiroaki, Yoshizawa Katsuhiko, Nishizawa Mikio, Sekimoto Mitsugu	4. 巻 25
2. 論文標題 Sulforaphane Is Protective against Warm Ischemia/Reperfusion Injury and Partial Hepatectomy in Rats	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 579 ~ 579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms25010579	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 Okuyama Tetsuya, Nakatake Richi, Ito Kentaro, Ishizaki Morihiko, Yanagida Hidesuke, Kitade Hiroaki, Yoshizawa Katsuhiko, Ikeya Yukinobu, Nishizawa Mikio, Sekimoto Mitsugu	4. 巻 51
2. 論文標題 Hepatoprotective effects of baicalein against liver ischemia-reperfusion injury and partial hepatectomy in a rat model	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Molecular Biology Reports	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) 10.1007/s11033-024-09548-9	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 Nakatake Richi, Okuyama Tetsuya, Kotsuka Masaya, Ishizaki Morihiko, Kitade Hiroaki, Yoshizawa Katsuhiko, Tolba Rene H., Nishizawa Mikio, Sekimoto Mitsugu	4. 巻 60
2. 論文標題 COMBINATION THERAPY WITH A SENSE OLIGONUCLEOTIDE TO INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE MRNA AND HUMAN SOLUBLE THROMBOMODULIN IMPROVES SURVIVAL OF SEPSIS MODEL RATS AFTER PARTIAL HEPATECTOMY	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Shock	6. 最初と最後の頁 84 ~ 91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SHK.0000000000002135	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 該当する

1. 著者名 Nishizawa Mikio, Okuyama Tetsuya, Nakatake Richi	4. 巻 -
2. 論文標題 The Natural Antisense Transcript-Targeted Regulation Technology Using Sense Oligonucleotides and Its Application	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 IntechOpen	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) 10.5772/intechopen.108281	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 Nakatake Richi, Schulz Mareike, Kalvelage Christina, Benstoem Carina, Tolba Ren? H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Effects of iNOS in Hepatic Warm Ischaemia and Reperfusion Models in Mice and Rats: A Systematic Review and Meta-Analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 11916 ~ 11916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms231911916	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 該当する

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Richi Nakatake, Tetsuya Okuyama, Morihiko Ishizaki, Hidesuke Yanagida, Hiroaki Kitade, Katsuhiko Yoshizawa, Mikio Nishizawa, Mitsugu Sekimoto
2. 発表標題 Effects of AHCC(R) on hepatic ischemia-reperfusion injury and partial hepatectomy in rats
3. 学会等名 統合医療機能性食品国際学会第31回年会 (ICNIM2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsuya Okuyama, Richi Nakatake, Kentaro Ito, Yukinobu Ikeya, Mitsugu Sekimoto, Mikio Nishizawa
2. 発表標題 Baicalin and baicalein, constituents of Scutellariae radix, inhibit the induction of nitric oxide production in interleukin 1 -treated rat hepatocytes
3. 学会等名 統合医療機能性食品国際学会第30回年会 (ICNIM2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 執筆者：73名、技術情報協会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 411
3. 書名 mRNAの制御機構の解明と治療薬・ワクチンへの活用	

〔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	西澤 幹雄 (NISHIZAWA Mikio) (40192687)	立命館大学・生命科学部・教授 (34315)	
研究分担者	中竹 利知 (NAKATAKE Richi) (40779401)	関西医科大学・医学部・助教 (34417)	

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		
ドイツ	アーヘン工科大学		