

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 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：15201
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22590063
 研究課題名（和文）血管疾患におけるテネイシンファミリーの作用機序の解明とその診断法への応用
 研究課題名（英文）Role of tenascin family in vascular diseases and its application for diagnosis
 研究代表者
 松本 健一（MATSUMOTO KEN-ICHI）
 島根大学・総合科学研究支援センター・教授
 研究者番号：30202328

研究成果の概要（和文）：大動脈瘤患者血清を用いてのテネイシン X（TNX）の酵素免疫測定（ELISA）法の開発と、血管疾患の病変組織及び患者血清の網羅的発現差異プロテオミクス解析を行った。その結果、近傍正常組織と比較して石灰化大動脈弁（CAV）組織において、TNX が最も発現減少する蛋白質であることが明らかとなった。また、近傍正常組織に比べての腹部大動脈瘤（AAA）組織や胸部大動脈瘤（TAA）組織における各蛋白質の発現差異蛋白質の解析により、AAA 病変組織と TAA 病変組織の両方において発現変動蛋白質として同定された 121 個の蛋白質の内、テネイシン C（TNC）を含む 58 個の蛋白質の発現パターンが AAA 病変組織と TAA 病変組織間で有意に異なることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）： We developed ELISA system for measurement of serum tenascin-X (TNX) concentration and performed proteomic analysis of vascular lesion tissues and sera in patients with vascular diseases. In calcified aortic valve (CAV) tissues, TNX showed the greatest decrease in expression compared to normal adjacent tissues. Furthermore, fifty-eight proteins including tenascin-C (TNC) in which expression patterns were distinct between abdominal aortic aneurysm (AAA) and thoracic aortic aneurysms (TAA) were found among 121 differentially expressed proteins identified in both of AAA and TAA compared to normal adjacent tissues.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：血管疾患・腹部大動脈瘤・胸部大動脈瘤・石灰化大動脈弁・血清・プロテオミクス解析・テネイシンファミリー・ELISA 法

1. 研究開始当初の背景

生活習慣の欧米化や高齢化により、大動脈等における動脈瘤や石灰化などの血管疾患

や心臓弁膜症等の心疾患は急速に増加しつつある。そのため、分子レベルでその発症機構を理解し、さらには得られた知見を

基にした治療法の開発が必要となっている。

我々は、細胞外マトリックス (ECM) ・テネイン (TN) ファミリー (テネイン C (TNC)、テネイン R (TNR)、テネイン X (TNX)、テネイン W (TNW)) に属するメンバーである TNX を同定して以来 (Matsumoto *et al.*, *Genomics* **12**, 485-491, 1992; Matsumoto *et al.*, *J. Cell Biol.* **125**, 483-493, 1994)、TNX の機能の解明を目指し、*in vivo* 系と *in vitro* 系の両面から解析を行ってきた。TNX は血管内皮増殖因子 VEGF-B と結合し、TNX と VEGF-B の共存下では、VEGF-B のみの存在下に比べ、血管内皮細胞の増殖を促進させることが明らかとなり、TNX は血管形成に関与する TN ファミリーメンバーであることが示唆された (Ikuta *et al.*, *Genes Cells* **5**, 913-928, 2000)。また、他のグループにより、TNX が腹部大動脈瘤患者の血清で高値を示す事も示された (Zweers *et al.*, *Circulation* **113**, 1702-1707, 2006)。一方、TNC はアテローム性動脈硬化の粥状隆起部 (Wallner *et al.*, *Circulation* **99**, 1284-1289, 1999)、上行大動脈瘤 (Majumdar *et al.*, *Cardiovasc. Pathol.* **16**, 144-150, 2007)、血管石灰化を伴っての大動脈弁狭窄部 (Jian *et al.*, *Am. J. Pathol.* **150**, 1349-1360, 1997) 等における高い発現が報告された。

2. 研究の目的

TN ファミリーは、血管疾患の病態の進行に深く関与していることが推測されてきた。しかしながら、TN ファミリーの血管疾患における包括的な分子レベルでの作用機序の解明はまだ為されていなかった。本研究においては、TN ファミリーが深く関わっていることが推測される血管疾患の分子レベルでの全体像を明らかにするために、プロテオミクス解析により、TN ファミリー (特に TNX と TNC) と発現相関する蛋白質の同定と解析を、患者病変血管組織や患者血清を用いて包括的に行った。

また、各血管疾患患者の血清を用いて、TN ファミリーの発現量と血管疾患の病態との関連を調べることを目的として、TN ファミリー (特に TNX) の血中濃度測定のための酵素免疫測定 (ELISA) 系の開発を行なった。

3. 研究の方法

(1) 血清 TNX の濃度測定のための、サンドイッチ ELISA 法の確立 (Sato *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* **33**, 1898-1902, 2010)

①ヒト血清 TNX を検出できる 2 種類の抗体の作製とその精製

ヒト TNX のフィブロネクチンタイプ III 様 (FNIII) 配列の 2ヶ所 (第 30 番目の FNIII 配列と第 31 番目の FNIII 配列) の cDNA 領域をクローニングし、その領域の組換え体蛋白質 (hu30 蛋白質と hu31 蛋白質) を得た。また、サンドイッチ ELISA 測定時の標準物質として使用する hu30-31 蛋白質を同様に精製した。次に、精製した hu30 蛋白質と hu31 蛋白質をウサギに免疫し、ヒト血中 TNX に特異性の高い抗血清を得、抗原アフィニティークロマトグラフィーにより 2 種類の TNX 抗体 (捕捉用・-hu30 抗体と検出用・-hu31 抗体) を精製した。

②サンドイッチ ELISA 法

捕捉用 TNX 抗体 (-hu30) を 96-ウエル・マイクロタイタープレートに固相化を行い、その後そのプレートを Tween 20 を含む PBS により (PBST) 洗浄後、ウシアルブミン (BSA) により各プレートのブロッキングを行った。その後、PBST で洗浄後、血管疾患患者の血清 (5 倍希釈液) を各ウエルに添加し、室温で各ウエルに固相化された・-hu30 抗体と 1.5 時間反応させた。その後、各ウエルを良く洗浄後、ペルオキシダーゼ (HRP) 標識した検出用 TNX 抗体

(・-hu31 抗体) を添加し、1.5 時間反応させた。そして、各ウエルを良く洗浄後、HRP 発色基質である

tetramethyl-benzidine 液を添加し、3 分間の反応を行った。その後、450 nm により吸光度の測定を行いヒト血中 TNX 濃度の測定を行った。

(2) 発現差異プロテオミクス解析

①血管疾患病変組織の近傍正常組織と比較してのプロテオミクス解析 (Matsumoto *et al.*, *Int. J. Mol. Med.* **30**, 417-429, 2012; Matsumoto *et al.*, *Connect. Tissue Res.* **53**, 460-468, 2012)

血管疾患 [腹部大動脈瘤 (AAA) ・胸部大動脈瘤 (TAA) 組織、石灰化腹部大動脈瘤

(CAA) ・胸部大動脈瘤 (CTA) 組織、石灰化大動脈弁組織 (CAV) 等] の病変組織とその近傍正常組織より、蛋白質を抽出した。各々の蛋白質を、変性、還元、アルキル化、トリプシン消化後、各々異なる isobaric tag for relative and absolute quantitation (iTRAQ) 試薬により標識を行い、標識された各々のサンプルを混ぜ、過剰量の iTRAQ の除去とペプチドの分画のために、陽イオン交換クロマトグラフィーを行い、6 分画に分けた。次に、各分画をナノ液体クロマトグラフィー (NanoLC) により 171 分画に分け、matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) 用

マトリックス溶液である

・-cyano-4-hydroxycinnamic acid (・-CHCA) と混ぜながら、直接、MALDI-飛行時間型質量分析計 [MALDI-time of flight (TOF) /TOF] のプレートに滴下した。次に、MALDI-TOF/TOF 質量分析計で mass spectrometry (MS) 解析を、そして続いて MS/MS 解析を行った。その MS/MS 解析結果に基づき、ProteinPilot ソフトウェアを用いて発現変動蛋白質の同定を行った。

②血管疾患患者の術前・術後血清を用いてのプロテオミクス解析 (学術論文投稿中)

腹部大動脈瘤 (AAA) 患者 7 名と胸部大動脈瘤 (TAA) 患者 7 名から、手術前 (平均 7.1 日) と手術後 (平均 9.3 日) の臨床検査の残余の血清を得た。また、コントロールとして、ボランティアの健康人 4 名の血清を、約 2 週間の間隔で得た。各血清より、血清中に多量に存在するアルブミンや免疫グロブリン

(IgG) を、アルブミン・IgG 除去スピニングカラムにより除去した。次に、各患者由来の術前、術後サンプルを、変性、還元、アルキル化、トリプシン消化後、各々異なる iTRAQ 試薬により標識を行い、標識された各々のサンプルを混ぜた。以下、先に述べた血管疾患病変組織におけるプロテオミクス解析と同様の方法で、術前血清中と術後血清中において、量的変動のある蛋白質の同定を行った。さらに、AAA 患者、TAA 患者の各々 7 名中 6 名以上において共通に同定され、かつ各々の蛋白質の術後/術前の iTRAQ 比が 1.3 倍以上または 0.77 倍未満の値を示す蛋白質を、有意な発現変動蛋白質として同定した。さらに、AAA 患者血清と TAA 患者血清において同定された発現変動蛋白質の内、4 名の健康人の血清の内 2 名以上の血清の 2 時点の血清サンプルの比較において、その蛋白質の iTRAQ 比が 1.3 倍以上または 0.77 倍未満の変動値を示した場合は、その蛋白質は健康人においても有意に発現変動を示す蛋白質と見做し、それらの変動蛋白質を除外した。さらに残った変動蛋白質の内、患者グループと健康人グループで有意な発現量の差が見られた蛋白質 ($p < 0.05$) を最終的に選んだ。

本研究で使用した全ての血管疾患の病変組織サンプルや患者血清サンプル等は、共同研究者の島根大学医学部循環器呼吸器外科学講座・織田禎二教授より供与を受けた。尚、本研究は、「テネインファミリー及び未同定蛋白質の網羅的発現変動解析による循環器疾患の病態解明と新規診断・治療法の開発」(代表者: 織田禎二教授; 分担者: 松本健一) の課題名で、島根大学医学部・医の倫理委員会から承認を受けた。

4. 研究成果

(1) 腹部大動脈瘤患者及び胸部大動脈瘤患者血清における TNX 濃度の測定 (Sato *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* **33**, 1898-1902, 2010)

開発した血清 TNX の濃度測定のための、サンドイッチ ELISA 法により、まず、健康人血清を得 (コントロール群) (N)、TNX の血清濃度の測定を行ったところ、 271.2 ± 7.2 ng/ml であった。それに対して、腹部大動脈瘤 (AAA) 患者の血清 TNX 濃度は、 260.1 ± 10.2 ng/ml で、胸部大動脈瘤 (TAA) 患者血清の TNX 濃度は、 255.6 ± 7.7 ng/ml であった (図 1)。

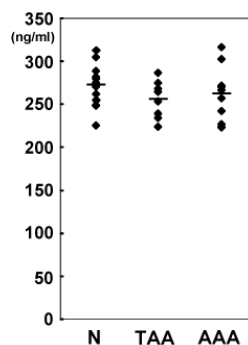


図 1. サンドイッチ ELISA 法による腹部大動脈瘤患者及び胸部大動脈瘤患者血清中の TNX 濃度の測定

N: コントロール血清

TAA: 胸部大動脈瘤患者血清

AAA: 腹部大動脈瘤患者血清

一方、AAA 組織及び TAA 組織から蛋白質を抽出し、TNX の蛋白質レベルでの発現をウエスタンブロット解析により調べた。その結果、正常血管組織に比べ TNX の発現は、AAA 及び TAA の組織において亢進していることが明らかとなった。以上のことより、大動脈瘤患者の血清 TNX 濃度は健康人のそれとほぼ同じ値を示すこと (図 1) とは異なり、腹部・胸部大動脈瘤組織では、TNX の高発現が見られることが明らかとなった。以上のことより、大動脈瘤組織における TNX の発現亢進は、血中への TNX の漏出を引き起こさないことが明らかとなった。

(2) 石灰化腹部・胸部大動脈瘤組織の発現差異プロテオミクス解析 (Matsumoto *et al.*, *Int. J. Mol. Med.* **30**, 417-429, 2012)

石灰化大動脈瘤の発症に関与する蛋白質を包括的に明らかにするために、石灰化腹部大動脈瘤 (CAA)・胸部大動脈瘤 (CTA) 組織を用いて、近傍の正常組織と比べ発現変動を示す蛋白質の包括的な発現差異プ

ロテオミクス解析を行った。その結果、正常組織と比べて、CAA組織においては138個の、またCTA組織においては134個の発現差異蛋白質を同定した。の中には、既に大動脈瘤形成や血管石灰化に関与することが報告されているI型コラーゲン、マトリックスGla蛋白質、フィブリノーゲン、フェチュインA等が見出された。さらには、発現変動を示す生化学経路（パスウェイ）を解析したところ、CAA組織においてはインテグリンシグナル伝達経路等の蛋白質が、CTA組織においては血液凝固経路等の蛋白質が発現増加していることが明らかとなった。一方、CTA組織においては、解糖系やサイトカイン・ケモカインシグナル介在炎症経路等の蛋白質が発現減少していることが明らかとなった。

(3) 石灰化大動脈弁組織の発現差異プロテオミクス解析 (Matsumoto *et al.*, *Connect. Tissue Res.* **53**, 460-468, 2012)

心臓の大動脈弁石灰化の分子機序を明らかにする目的で、石灰化大動脈弁 (CAV) の一部を用いて、近傍の正常大動脈弁組織に比べ発現変動を示す蛋白質の網羅的な発現差異プロテオミクス解析を行った。その結果、発現差異が見られた105個の蛋白質を同定した。その内、有為な発現差異が見られた73個の蛋白質を同定した。CAV組織において最も発現増加した蛋白質はフェチュインAで、最も発現減少した蛋白質はTNXであった。また、パスウェイ解析により、血液凝固経路等の蛋白質の発現増加が、一方インテグリンシグナル伝達経路等の蛋白質の発現減少が明らかとなった。また、興味深いことにI型コラーゲン、VI型コラーゲン、デコリン、フィブロモジュリン等のコラーゲン線維形成調節蛋白質の発現減少も明らかとなった。さらに、コラーゲン線維形成調節蛋白質の発現減少は、プロテオミクス解析には用いなかった他の大動脈弁石灰化患者由来のCAV組織を用いたウェスタンブロット解析においても確認された (図2)。コラーゲンを始めとする多くのECMの発現減少が明らかとなり、石灰化大動脈弁組織での大規模なECMの破壊が示唆された。

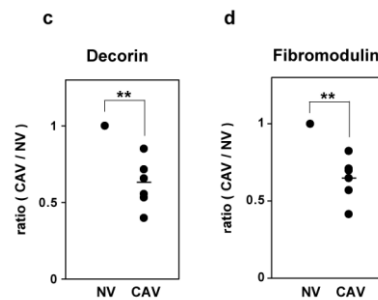
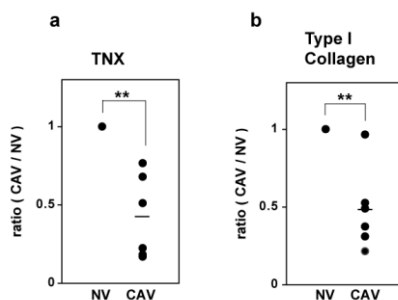


図2. 正常近傍大動脈弁組織 (NV) と石灰化大動脈弁組織 (CAV) から抽出した蛋白質を用い、ウェスタンブロット解析による、CAV組織におけるTNX (a)、I型コラーゲン (b)、デコリン (c)、フィブロモジュリン (d) のコラーゲン線維形成調節蛋白質の発現減少の確認

(4) 腹部・胸部大動脈瘤の患者の血清を用いて、手術前と手術後の血清蛋白質を比較しての発現変動蛋白質の同定

腹部・胸部大動脈瘤の患者の術前と術後の血清を用いて、術前と術後の血清蛋白質を比較して、各々術前と術後の7サンプルの内6サンプル以上において同定された発現変動蛋白質の数は、腹部大動脈瘤 (AAA) 患者血清においては78個、胸部大動脈瘤 (TAA) 患者血清においては86個、その内共通に同定された蛋白質は75個であった。さらに上記の内、4名の健常人血清の内2名以上において術後/術前のiTRAQ比が1.3倍以上または0.77倍未満の値を示した発現変動の大きな蛋白質を除去すると、AAA患者血清においては63個、TAA患者血清においては71個、その内61個の蛋白質はAAA患者血清とTAA患者血清の共通に同定された。さらに上記の内、術後/術前のiTRAQ比が1.3倍以上の値を示し、患者グループと健常人グループで有意な発現量の差を示した蛋白質は、最終的に、AAA患者血清においては6個、TAA患者血清においては8個であった。これら術後増加蛋白質は、Serum amyloid A proteinを始めてとして、全て炎症性マーカー蛋白質 (acute phase protein) であった。一方、術後/術前のiTRAQ比が0.77倍未満の値を示す発現変動蛋白質は、AAA患者血清においては12個、TAA患者血清においては17個であった。現在、これらの術後減少した蛋白質の内、興味深い数個の蛋白質の発現変動を、他のAAA患者やTAA患者の術前、術後の血清サンプルを用いて確認しているところである。

(5) 腹部・胸部大動脈瘤組織の発現差異プロテオミクス解析

近傍正常組織と比べての腹部大動脈瘤 (AAA) 組織や胸部大動脈瘤 (TTA) 組織における発現差異プロテオミクス解析を行ったところ、発現差異蛋白質として AAA 病変組織においては 55 個の特異的な蛋白質が同定され、TAA 病変組織においては 68 個の特異的な蛋白質が同定された。また、AAA 病変組織と TAA 病変組織において共通に発現変動蛋白質として同定された 121 個の蛋白質の内、テネイシン C (TNC) を含む 58 個の蛋白質が、AAA 病変組織と TAA 病変組織とで発現パターンに相違が見られた。近傍正常組織に比べての AAA 病変組織での TNC の発現量は、ほぼ変化はないが (0.93 倍)、一方、近傍正常組織に比べての TAA 病変組織での TNC の発現量は、1.86 倍と増加していた。AAA 組織や TAA 組織特異的発現差異蛋白質や、AAA 組織と TAA 組織の間で発現パターンに相違が見られた TNC を含む 58 個の蛋白質が、AAA 組織と TAA 組織の病変の相違に関与している可能性が示唆された。

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 8 件)

① 松本健一. 大動脈弁石灰化と細胞外マトリックス・テネイシン X. *Vascular Medicine*, 先端医学社, **9**, 83-88, 2013. (査読無)

② 松本健一. エーラス・ダンロス症候群の原因遺伝子の一つのテネイシン X. *臨床化学*, 日本臨床化学会, **42**, 22-29, 2013. (査読無し)

③ Ken-ichi Matsumoto, Kazumi Satoh, Tomoko Maniwa, Asuka Araki, Riruke Maruyama, and Teiji Oda. Noticeable decreased expression of tenascin-X in calcific aortic valves. *Connect. Tissue Res.* **53**, 460-468, 2012. doi: 10.3109/03008207.2012.702818. (査読有)

④ Teiji Oda, Kouji Shimizu, Akane Yamaguchi, Kazumi Satoh, and Ken-ichi Matsumoto. Hypothermia produces rat liver proteomic changes as in hibernating mammals but decreases endoplasmic reticulum chaperones. *Cryobiology* **65**, 104-112, 2012. doi: 10.1016/j.cryobiol.2012.05.004. (査読有)

⑤ Ken-ichi Matsumoto, Tomoko Maniwa, Tetsuya Tanaka, Kazumi Satoh, Hideki Okunishi, and Teiji Oda. Proteomic analysis of calcified abdominal and thoracic aortic

aneurysms. *Int. J. Mol. Med.* **30**, 417-429, 2012. doi: 10.3892/ijmm.2012.985. (査読有)

⑥ Ken-ichi Matsumoto. Phosphorylation of extracellular matrix tenascin-X detected by differential mass tagging followed by nanoLC-MALDI-TOF/TOF-MS/MS using ProteinPilot software. *Connect. Tissue Res.* **53**, 106-116, 2012. doi: 10.3109/03008207.2011.611600. (査読有)

⑦ Kohei Kawakami, and Ken-ichi Matsumoto. Behavioral alterations in mice lacking the gene for tenascin-X. *Biol. Pharm. Bull.* **34**, 590-593, 2011. (査読有)

⑧ Kazumi Satoh, Marie Tsukamoto, Masanobu Shindoh, Yasunori Totsuka, Teiji Oda, and Ken-ichi Matsumoto. Increased expression of tenascin-X in thoracic and abdominal aortic aneurysm tissues. *Biol. Pharm. Bull.* **33**, 1898-1902, 2010. (査読有)

[学会発表] (計 12 件)

① 松本健一、佐藤 和美、馬庭 朋子、織田 禎二. 石灰化大動脈弁組織の発現差異プロテオミクス解析 (Proteomic analysis of differentially expressed proteins in calcific aortic valves). 第 85 回日本生化学会大会、2012 年 12 月 16 日、福岡国際会議場・マリンメッセ (福岡) .

② 松本健一. 石灰化大動脈弁における発現差異プロテオミクス解析—テネイシン X などのコラーゲン線維調節蛋白質の協調的発現減少—. 第 2 回テネイシンフォーラム、2012 年 11 月 10 日、東京理科大学薬学部 (東京) .

③ 松本健一、佐藤 和美、馬庭 朋子、丸山 理留敬、織田 禎二. 石灰化大動脈弁における細胞外マトリックス・テネイシン X の発現量の顕著な減少 (Noticeable Decreased Expression of Tenascin-X in Calcific Aortic Valves). 第 44 回日本結合組織学会学術大会・第 59 回マトリックス研究会大会合同大会、2012 年 6 月 7 日～8 日、日本青年館 (東京) .

④ 三浦 美樹子、三浦 岳、山口 佳美、松本健一、今出 真司、内尾 祐司、青山 朋樹、田邊 剛、藤田 由委. 重力負荷が変化する出生前後のラット膝関節軟骨の軟骨マトリックスの変化. 第117回日本解剖学会

総会・全国学術集会、2012年3月26日、山梨大学甲府キャンパス（甲府）。

⑤ 松本 健一、馬庭 朋子、田中 徹也、佐藤 和美、奥西 秀樹、織田 禎二. 石灰化大動脈瘤組織における網羅的蛋白質発現差異分析 (Proteomic analysis of calcified aortic aneurysm). 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月14日、パシフィコ横浜（横浜）。

⑥ 松本 健一. テネイシン X の機能解明に向けて. 第1回テネイシンフォーラム、2011年11月5日、三重大学医学研究科(津)。

⑦ 松本 健一、川上 浩平. 細胞外マトリックス・テネイシンX欠損マウスの行動解析 (Behavioral analysis of extracellular matrix tenascin-X-deficient mice). 第84回日本生化学会大会、2011年9月23日、国立京都国際会館（京都）。

⑧ 松本 健一. 血清刺激により発現変動するリン酸化蛋白質の網羅的プロテオミクス解析：テネイシンXのリン酸化の同定 (Phosphoproteomic analysis of HeLa cells in response to serum stimulation: Phosphorylation of extracellular matrix tenascin-X). 第43回日本結合組織学会学術大会・第58回マトリックス研究会大会合同学術集会、2011年6月10日～11日、別府国際コンベンションセンター（別府）。

⑨ 田中 徹也、奥西 秀樹、織田 禎二、松本 健一. ヒト胸部及び腹部大動脈瘤組織における網羅的蛋白質発現変動解析. (Quantitative proteomics analysis of human thoracic and abdominal aortic aneurysm tissues) 第83回日本生化学会大会・第33回分子生物学会合同大会、2010年12月10日、神戸ポートアイランド（神戸）。

⑩ 松本 健一、佐藤 和美、塚本 万里枝、進藤 正信、戸塚 靖則、織田 禎二. ヒト胸部及び腹部大動脈瘤疾患部位における細胞外マトリックス・テネイシンXの高発現と糖鎖修飾の亢進 (Prominent expression and higher glycosylation of tenascin-X in human thoracic and abdominal aortic aneurysm). 第83回日本生化学会大会・第33回分子生物学会合同大会、2010年12月9日、神戸ポートアイランド（神戸）。

⑪ Atsushi Watanabe, Miki Hatakeyama, Ryu Tsunoda, Ken-ichi Matsumoto, Hiroshi Kawame, and Takashi Shimada. Hypermobility Syndrome in Japan. The 60th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, November

5, 2010, Exhibition Hall, Convention Center (Washington, USA).

⑫ 島山 未来、渡辺 淳、角田 隆、松本 健二、川目 裕、島田 隆. 日本における過剰運動症候群 (Hypermobility Syndrome) の現状. 第55回大会日本人類遺伝学会、2010年10月28日、大宮ソニックシティ（埼玉）。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 健一 (MATSUMOTO KEN-ICHI)
島根大学・総合科学研究支援センター・
教授
研究者番号：30202328