

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390153

研究課題名(和文) そう痒性疾患の痒みにおけるプロテアーゼとプロテイナーゼ活性化受容体2型の役割

研究課題名(英文) Roles of proteases and proteinase-activated receptor 2 in itching of pruritic diseases

研究代表者

倉石 泰 (KURAIISHI, Yasushi)

富山大学・大学院医学薬学研究部(薬学)・教授

研究者番号：80111970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円、(間接経費) 4,290,000円

研究成果の概要(和文)：受動皮膚アナフィラキシーなどのヒスタミン依存性及びアトピー性皮膚炎などのヒスタミン非依存性の様々なそう痒性疾患のマウスモデルを用いて、プロテアーゼ(特にセリンプロテアーゼ) プロテイナーゼ活性化受容体2(PAR2)系がそう痒性疾患の痒みに関与することを明らかにした。PAR2は、主に、一次感覚神経ならびに表皮ケラチノサイトに発現していたことから、プロテアーゼによる直接一感覚神経の活性化に加え、ケラチノサイトを介して痒み因子を産生遊離する間接的な機序で痒みが誘発・増強されると結論した。

研究成果の概要(英文)：We used many animal models of histamine-dependent and independent itch to demonstrate that serine proteases and proteinase-activated receptor-2 (PAR2) are involved in itching of many pruritic diseases. PAR2 is expressed mainly in keratinocytes and primary afferents in the skin. Thus, proteases may elicit itch through the direct activation of primary afferents and indirectly through the release of itch mediators from keratinocytes.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・疼痛学

キーワード：痒み そう痒性疾患 プロテアーゼ PAR2受容体 PAR2受容体拮抗薬 搔破

## 1. 研究開始当初の背景

古典的な内因性痒みメディエーターとして最もよく知られているのは histamine であり、抗ヒスタミン薬 ( $H_1$  ヒスタミン受容体拮抗薬) は種々のそう痒症への適応が認可されている。しかしながら、現在では、 $H_1$  ヒスタミン受容体拮抗薬では十分にコントロールできない痒み (難治性痒み, histamine 非依存性痒み) が多く存在することが知られている。難治性の痒みでは histamine 以外の内因性因子が重要な役割を果たすと推測される。プロテアーゼも、ヒトの皮膚に投与すると痒みを引き起こすことが古くから知られていたが、一部のプロテアーゼがマスト細胞から histamine を遊離させることなどから、痒みメディエーターとしては histamine ほどには重要視されることはなかった。1990 年代半ば以降、セリンプロテアーゼが主に作用する受容体であるプロテイナーゼ活性化受容体 (proteinase-activated receptor, PAR) の研究が進歩し、PAR 受容体の 4 つのサブタイプ  $PAR_{1-4}$  の存在が明らかになった。特に、trypsin 型セリンプロテアーゼで活性化される  $PAR_2$  受容体は、アトピー性皮膚炎患者の痒みに関与する可能性が報告されてきたが、臨床研究は限られており、そう痒性疾患の痒みの発生に  $PAR_2$  がどの程度の役割を果たすかは、まだほとんど明らかにされていない。我々は、動物実験により、 $PAR_2$  受容体が histamine 非依存性の痒みに重要であることを明らかにした。また、マスト細胞に含有される trypsin 型セリンプロテアーゼ tryptase が、histamine などと比較して非常に少量で痒みを引き起こすこと、およびその作用に  $PAR_2$  受容体に関与することを明らかにした。さらに、前述の如く  $H_1$  ヒスタミン受容体拮抗薬でコントロールできないアトピー性皮膚炎の痒みに  $PAR_2$  受容体に関与する可能性が示され、我々は、慢性アレルギー性皮膚炎マウスの痒み反応にセリンプロテアーゼと  $PAR_2$  受容体に関与することを明らかにした。以上の知見に基づき、セリンプロテアーゼと  $PAR_2$  受容体は、 $H_1$  ヒスタミン受容体拮抗薬で十分にコントロールできない難治性痒みの多くにおいて重要な役割を果たすのではないかと考えた。また、非ペプチド性の  $PAR_2$  受容体拮抗薬・部分作動薬が新規鎮痒薬になりうると思った。

## 2. 研究の目的

種々のそう痒性疾患 (受動皮膚アナフィラキシー、アトピー性皮膚炎、乾燥性皮膚搔痒症、蚊アレルギー、アレルギー性結膜炎、皮膚糸状菌感染、胆汁うっ滞肝障害など) の痒みのマウスモデルを用いて、プロテアーゼと  $PAR_2$  受容体の関与と作用機序を明らかにする。また、新規鎮痒薬のリード化合物を指向した

小分子の  $PAR_2$  受容体拮抗薬あるいは部分作動薬の設計・合成に取り組む。

## 3. 研究の方法

### 実験動物:

主に雄性 ICR 系マウスを用いた。一部の実験では、雄性 NC 系マウスを用いた。

### 起痒因子誘発そう痒:

Cathepsin E あるいは, gastrin-releasing peptide (GRP)<sub>18-27</sub> ( $BB_2$  受容体に対して GRP と同等の結合親和性を有するペプチド), granzyme A を、予め除毛しておいたマウス吻側背部皮膚に皮内注射して痒み反応を惹起した。

### 慢性アレルギー性皮膚炎:

NC 系マウスは、特定病原性微生物等の制御環境下 (SPF) で飼育すると皮膚は健常状態を維持し、痒み反応である搔き動作もほとんど認められない。一方、通常環境下でダニが寄生しているマウスと共存させる、ダニ感染が原因でアトピー性皮膚炎様の慢性アレルギー性皮膚炎を発症する。本実験では、健常マウスと慢性皮膚炎を発症したマウスを用いた。

### 乾燥性皮膚そう痒症:

吻側背部を剃毛した ICR 系マウスを用いた。acetone 及び ether (1:1) 混液を浸み込ませた脱脂綿を 15 秒間剃毛部に作用させ、続いて蒸留水を染み込ませた脱脂綿を 30 秒間作用させた (AEW 処置)。この操作を 1 日 2 回 8 時間以上の間隔をおいて 5 日間行い、本モデルを作製した。

### 蚊アレルギーの痒み:

雌性成虫ヒトスジシマカ *Aedes albopictus* の唾液腺を含む胸部の蒸留水ホモジネートを遠心分離し、上清を 0.45  $\mu$ m 孔のフィルターに通して蚊唾液腺抽出物を作製した。蚊唾液腺抽出物を生理食塩水で 10  $\mu$ g/50  $\mu$ L に調整し ICR 系マウスの尾側背部に週 2 回、計 8 回皮内注射することによりマウスを感作した。チャレンジは、感作マウスの吻側背部 (予め除毛) にタンパク質量 10  $\mu$ g/50  $\mu$ L の蚊唾液腺抽出物を皮内注射することにより行った。

### 皮膚糸状菌誘発そう痒:

ヒトの白癬の原因菌の一つである皮膚糸状菌 *Arthroderma vanbreuseghemii* (ADV) を生理食塩水中で超音波破碎した。これをカットオフ分子量 30kDa で遠心して脱塩濃縮し、ADV 抽出物を作製した。ICR 系マウスの吻側背部 (予め除毛) にタンパク質量 20  $\mu$ g/50  $\mu$ L の ADV 抽出物を皮内注射して痒み反応を惹起した。

#### 胆汁うっ滞性そう痒症：

ICR 系マウスの胆管を結紮した。6 週間後に自発的掻き動作を示すマウスを、胆汁うっ滞性そう痒症のマウスとして用いた。

#### 受身皮膚アナフィラキシーの痒み：

ICR 系マウスの予め除毛しておいた吻側背部皮膚に抗 dinitrophenol (DNP) モノクローナル抗体 (4  $\mu$ g/50  $\mu$ L) を皮内注射し、その 2 時間後に同じ部位に DNP-ウシ血清アルブミン (10  $\mu$ g/20  $\mu$ L) を皮内注射し、痒み反応を惹起した。

#### アレルギー性結膜炎の痒み：

ブタクサ花粉に水酸化アルミニウム (Alum) をアジュバントとして混ぜて作製した懸濁液 (100  $\mu$ g/100  $\mu$ L) を、感作の目的で ICR 系マウスの尾側背部に毎週 2 回 3 週間で計 6 回皮下注射した。チャレンジにはブタクサ花粉抽出物を用いた。ブタクサ花粉をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中に一晩浸し、遠心分離した上清をブタクサ花粉抽出物とした。これを 2  $\mu$ g/2  $\mu$ L のタンパク質量で感作マウスの眼瞼結膜下に注射して、痒み反応を惹起した。

#### 行動実験：

行動観察開始の 1 時間前にマウスを行動観察用ケージ (13 x 9 x 40 cm) に入れ、撮影環境に馴化させた。その後、無人環境下にデジタルビデオカメラでマウスの行動を撮影した。痒み様行動はビデオの再生により観察した。慢性アトピー性皮膚炎及び胆汁うっ滞性そう痒症では、後肢による全身の自発的掻き動作を痒み反応として観察した。その他の痒みモデルでは、除毛あるいは剃毛部への後肢による掻き動作を痒み反応として観察した。マウスは、1 秒間に数回掻くので、足をあげて降ろすまでの一連の動作を 1 回の掻き動作として数えた。

#### Endothelin-1 のウエスタンブロッティング：

麻醉下に、マウスを経心臓的に PBS で灌流して脱血・致死させ、皮膚を摘出した。皮膚片のホモジネートを遠心分離し、上清を皮膚試料とした。常法に従い、一定タンパク質量の皮膚試料を電気泳動法で分離後、抗 endothelin-1 抗体および抗  $\beta$ -actin 抗体と反応させた。その後 horseradish peroxidase 結合 2 次抗体と反応させた後に、化学発光検出試薬と反応させ、X 線フィルムへの感光によってシグナルを検出した。定量には Scion Image ソフトウエアを用い、データは各試料の  $\beta$ -actin 量で補正した。

#### 皮膚中 granzyme A の測定：

健常および慢性皮膚炎の NC 系マウスの皮膚より抽出したタンパク質を、予め抗 granzyme A 抗体でコーティングした 96 ウェルプレートに加え反応させた。洗浄後、

N-p-Tosyl-Gly-Pro-Arg-p-nitroanilide (granzyme A の基質) を含む溶液を加えて反応させた。Granzyme A により基質から切断・遊離した p-nitroanilide を 420nm で吸光度測定した。

#### 皮膚中 granzyme A mRNA の RT-PCR 測定：

麻醉下に、マウスを経心臓的に PBS で灌流して脱血・致死させた。皮膚を摘出し、RNA 抽出溶剤 TRIzol を用いて total RNA を抽出した。常法に従い RT-PCR を行い、電気泳動法で分離後、エチジウムブロマイドで染色し、バンドの濃さを Scion Image を用い算出した。Granzyme A mRNA の発現レベルは、各試料の GAPDH mRNA の量で補正した。

使用したプライマーは以下の通りである：

Granzyme A (sense)：

5' - tggaggagacacgggtgttc-3

Granzyme A (antisense)：

5' - gagggagctgacttattgaa-3

GAPDH (sense)：

5' - ccaaggtcatccatgacaac-3

GAPDH (antisense)：

5' - ttactccttggaggccacgt-3

#### 免疫染色：

麻醉下に、マウスを経心臓的に PBS で灌流・脱血し、続いて 4% paraformaldehyde で灌流固定した。その後、常法に従い、凍結切片を作製し、1 次抗体の choline acetyltransferase, PAR2, M3 アセチルコリン受容体、または endothelin-1 に対する抗体と反応させ、その後、蛍光標識した 2 次抗体と反応させた。標本の蛍光シグナルを、共焦点レーザー顕微鏡 (ライカ, TCS-SP5) で観察した。

## 4. 研究成果

### (1) GRP 誘発痒み反応：

GRP<sub>18-27</sub> (1~300 nmol/site) の皮内注射によりマスト細胞上の BB<sub>2</sub> ボンベシン受容体の刺激を介した痒み反応が惹起した。この反応は、FSLLRY-NH<sub>2</sub> (PAR<sub>2</sub> 受容体拮抗薬) で抑制された。このことは、GRP<sub>18-27</sub> によって誘発される痒み反応にマスト細胞由来のプロテアーゼ (恐らく tryptase) と PAR<sub>2</sub> 受容体が関与することを示唆する。

### (2) 慢性アレルギー性皮膚炎の痒み：

慢性アレルギー性皮膚炎マウスの自発的痒み反応が nafamostat (セリンプロテアーゼ阻害薬) 及び PAR<sub>2</sub> 受容体の中和抗体により抑制された。皮膚炎発症部位 T 細胞の増加が認められた。T 細胞に発現しているセリンプロテアーゼとして granzyme A に着目し解析を進めた。皮膚炎部位で granzyme A のレベルが増加していることを見出した。Granzyme A (0.1~1  $\mu$ g/site) の皮内注射により痒み反

応が惹起され、nafamostat 及び PAR<sub>2</sub> の中和抗体により抑制された。以上の結果より、慢性アレルギー性皮膚炎の痒み反応に、T 細胞から遊離された granzyme A が PAR<sub>2</sub> 受容体を刺激する機序が少なくとも一部関与することが示唆される。

### (3) 乾燥性皮膚そう痒症の痒み：

乾燥性皮膚そう痒症マウスの自発的痒み反応が nafamostat 及び PAR<sub>2</sub> 受容体の中和抗体により抑制された。また、乾燥性皮膚そう痒症マウスの痒み反応と carbachol (非選択的アセチルコリン受容体刺激薬) の皮内注射で誘発される健常マウスの痒み反応に M<sub>3</sub> アセチルコリン受容体が関与していることを見出した。Carbachol で誘発される痒み反応は nafamostat で抑制されたが、SLIGR-NH<sub>2</sub> (PAR<sub>2</sub> 活性化ペプチド) 誘発の痒み反応は M<sub>3</sub> アセチルコリン受容体拮抗薬 4-DAMP では抑制されなかった。Acetylcholine の産生に関わる酵素 choline acetyltransferase (ChAT), M<sub>3</sub> アセチルコリン受容体及び PAR<sub>2</sub> がケラチノサイトに発現していた。以上の結果を勘案すると、乾燥した皮膚において、何らかの原因で表皮ケラチノサイトの ChAT が活性化され、acetylcholine が遊離し、一次感覚神経の M<sub>3</sub> 受容体に作用して痒みシグナルを発生させる。また、ケラチノサイト上の M<sub>3</sub> 受容体 (G<sub>q/11</sub> の G タンパク質共役型受容体でその刺激はイノシトールリン酸の代謝回転を上昇させる) にもオートクライン・パラクライン的に作用して、セリンプロテアーゼを遊離する。セリンプロテアーゼは、一次感覚神経の PAR<sub>2</sub> 受容体に作用して痒みシグナルを発生させると共に、ケラチノサイト上の PAR<sub>2</sub> 受容体にも作用して、セリンプロテアーゼ及びその他の痒み因子を産生・遊離して痒みシグナルを増強・持続させる。以上の過程が、乾燥性皮膚そう痒症の痒みの発生機序の一つと考えられる。

### (4) 蚊アレルギーの痒み：

感作マウスに蚊唾液腺抽出物を皮内注射して誘発される痒み反応が nafamostat 及び PAR<sub>2</sub> 受容体の中和抗体により抑制された。この痒み反応にも、T 細胞と granzyme A が関与することを見出した。したがって、蚊アレルギーの痒みも、慢性アレルギー性皮膚炎の痒みと同様に、T 細胞から放出される granzyme A による PAR<sub>2</sub> 受容体刺激が少なくとも一部関与することが示唆される。

### (5) 皮膚糸状菌誘発痒み反応：

白癬の原因となる皮膚糸状菌は角質を分解して栄養源とするために種々の酵素を分泌する。ADV 抽出物 (20 µg/site) の皮内注射が健常 ICR 系マウスに痒み反応を誘発した。この反応は nafamostat 及び FSLLRY-NH<sub>2</sub> により抑制された。この痒み反応はまた、ONO-4057 (BLT1 ロイコトリエン受容体拮抗

薬) と zileuton (5-リポキシゲナーゼ阻害薬) により抑制された。ADV 抽出物 (20 µg/site) の皮内注射は、注射部位の皮膚内 leukotriene B<sub>4</sub> 濃度を上昇させ、この上昇が FSLLRY-NH<sub>2</sub> により抑制された。これらの結果から、ADV の表皮内感染による痒みに ADV が分泌するセリンプロテアーゼによる PAR<sub>2</sub> 受容体刺激とケラチノサイトにおける leukotriene B<sub>4</sub> 産生の増加が関与する可能性が明らかとなった。

### (6) 胆汁うっ滞性そう痒：

胆汁うっ滞性そう痒のマウスモデルの作出に成功した。このマウスの自発的痒み反応は、H<sub>1</sub> ヒスタミン受容体拮抗薬 terfenadine で抑制されず、PAR<sub>2</sub> 受容体中和抗体で抑制された。これらの結果から、胆汁うっ滞に伴う痒みにも PAR<sub>2</sub> 受容体が関与することが示唆される。

### (7) 受身皮膚アナフィラキシーの痒み：

Histamine の皮内注射で誘発される痒み反応をほぼ完全に抑制する用量の terfenadine は、受身皮膚アナフィラキシーによる痒み反応を抑制する傾向を示したが、統計的には有意でなかった。一方、FSLLRY-NH<sub>2</sub> は、有意に痒み反応を抑制した。受身皮膚アナフィラキシーは IgE 抗体を介してマスト細胞を刺激する I 型アレルギー反応であり、反応の原因は histamine などのマスト細胞のメディエーターである。本実験結果は、マスト細胞の脱顆粒を主要原因とする痒みにも tryptase などのセリンプロテアーゼによる PAR<sub>2</sub> 受容体刺激が重要な役割を果たすことを示唆する。

### (8) アレルギー性結膜炎の痒み：

アジュバントと共にブタクサ花粉で感作したマウスの眼瞼にブタクサ花粉抽出物を投与することにより誘発した痒み反応は、マスト細胞欠損マウスでは観察されないことから、マスト細胞依存性の反応である。この痒み反応も、nafamosta 及び FSLLRY-NH<sub>2</sub> により抑制された。したがって、アレルギー性結膜炎の痒みにも、マスト細胞由来のセリンプロテアーゼによる PAR<sub>2</sub> 受容体刺激が一部関与すると考えられる。

### (9) Cathepsin E 誘発痒み反応：

Cathepsin E はリンパ球、樹状細胞、ケラチノサイト、マスト細胞などに存在するアスパラギン酸プロテアーゼである。Cathepsin E (1~100 ng/site) の皮内注射が ICR 系マウスに痒み反応を引き起こした。Cathepsin E による痒み反応は、FSLLRY-NH<sub>2</sub> (PAR<sub>2</sub> 拮抗薬) では抑制されず、pepstatin A (アスパラギン酸プロテアーゼ阻害薬) 及び BQ-123 (ET<sub>A</sub> エンドセリン受容体拮抗薬) により抑制された。Cathepsin E の皮内注射により皮膚内の endothelin-1 濃度が増加した。表皮ケラチノサイトには endothelin-1 前駆体 mRNA が発現

し endothelin-1 が存在していた。以上の結果から, cathepsin E によって誘発される痒み反応は, 表皮における endothelin-1 の増加を介して生じ, PAR<sub>2</sub> は介さないことが示唆される。

#### (10) 低分子 PAR<sub>2</sub> 拮抗薬の創製:

現在 PAR<sub>2</sub> の立体構造が解明されていないため, 低分子化合物の設計は難しい。そこで, 低分子化合物で既に存在する PAR<sub>1</sub> 拮抗薬の分子構造を参考に設計を試みてきたが, 有効な拮抗薬の創製には至らなかった。

#### (11) まとめ:

本研究では, 起痒物質で誘発される痒みモデルや様々なそう痒性疾患マウスモデルを用いてセリンプロテアーゼ及び PAR<sub>2</sub> 受容体の関与を検討してきた。その結果, 皮膚の急性アレルギー, 慢性アレルギー性皮膚炎, 急性のアレルギー性結膜炎, 乾皮症, 胆汁うっ滞, 白癬と多様な原因の痒みにセリンプロテアーゼと PAR<sub>2</sub> 受容体が関与することが明らかとなった。免疫担当細胞とケラチノサイトに存在するアスパラギン酸プロテアーゼ cathepsin E も痒み反応を引き起こしたが, この反応には PAR<sub>2</sub> 受容体が関与していなかった。本研究の成果は, プロテアーゼが histamine よりも広範囲な原因の痒みに関与することを明らかにした。痒みの原因となるプロテアーゼ, 特にセリンプロテアーゼは原因疾患の種類によって異なる可能性があるが, その作用する受容体は PAR<sub>2</sub> 受容体である。したがって, PAR<sub>2</sub> 受容体拮抗薬あるいは PAR<sub>2</sub> 受容体部分作動薬は広範囲の有効性を有する新たな鎮痒薬として有望である可能性がある。残念ながら, 本課題の研究期間内には鎮痒薬のリード化合物となる PAR<sub>2</sub> 受容体拮抗薬あるいは PAR<sub>2</sub> 受容体部分作動薬の発見には至らなかったが, 今後とも研究を継続する計画である。

#### 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 11 件)

Tsugunobu Andoh, Yusuke Takayama, Yasushi Kuraishi, Involvement of leukotriene B<sub>4</sub> in dermatophyte-related itch in mice, Pharmacological Report, 査読有, 2014, in press, 10.1016/j.pharep.2014.01.003.

Yasushi Kuraishi, Potential new therapeutic targets for pathological pruritus, Biological & Pharmaceutical Bulletin, 査読無, Vol.36, 2013, 1228-1234, 10.1248/bpb.b13-00343

Tsugunobu Andoh, Yusuke Takayama, Yasushi Kuraishi, Involvement of serine protease and serine proteinase-activated receptor 2 in dermatophyte-associated itch in mice, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 査読有, Vol.343, 2012, 91-96, 10.1124/jpet.112.195222.

Tsugunobu Andoh, Tetsuro Yoshida, Jung-Bum Lee, Yasushi Kuraishi, Cathepsin E induces itch-related response through the production of endothelin-1 in mice, European Journal of Pharmacology, 査読有, Vol.686, 2012, 16-21, 10.1016/j.ejphar.2012.04.024.

Tsugunobu Andoh, Takashi Kuwazono, Jung-Bum Lee, Yasushi Kuraishi, Gastrin-releasing peptide induces itch-related responses through mast cell degranulation in mice, Peptides, 査読有, Vol.32, 2011, 2098-2103, 10.1016/j.peptides.2011.09.003.

##### [学会発表](計 24 件)

倉石 泰, 鎮痒薬の前臨床評価法の確立とヒスタミン非依存性の痒みの機序の解明, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27-30 日, 熊本

安東嗣修, プロテアーゼと痒み, 第 87 回日本薬理学会年会, 2014 年 3 月 19-21 日, 仙台

安東嗣修, マウスにおける眼アレルギーによる痒み反応へのマスト細胞由来セリンプロテアーゼの関与, 第 23 回国際痒みシンポジウム, 2013 年 10 月 26 日, 大阪

倉石 泰, そう痒性疾患の痒みのコントロールの新戦略 痒みとプロテアーゼ, 第 126 回日本薬理学会関東部会, 2012 年 7 月 14 日, 東京

Tsugunobu Andoh, Granzyme A and proteinase-activated receptor 2 are involved in the induction of itch-associated responses to mosquito allergy in mice, The 6<sup>th</sup> World Congress on Itch, 2011, 9, 4-6, Brest, France

##### [図書](計 2 件)

Yasushi Kuraishi, et al., Animal models of pathological itch: Pain Models: Translational Relevance and

Applications, IASP Press, 2013, 450

Tsugunobu Andoh, Yasushi Kuraishi,  
Lipid Mediators and Itch. In: "Itch:  
Mechanisms and Treatment", CRC Press,  
2014, 494

〔産業財産権〕  
出願状況（計 件）  
該当なし

取得状況（計 1 件）

名称：アレルギー性疾患のバイオマーカーおよびその利用  
発明者：倉石 泰，安東嗣修，中野 祐  
権利者：富山大学  
番号：特許 5297389  
種類：特許  
取得年月日：平成 25 年 8 月 2 日  
国内外の別： 国内

〔その他〕  
ホームページ等  
該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

倉石 泰 (KURAIISHI, Yasushi)  
富山大学・大学院医学薬学教育部(薬学)・  
教授  
研究者番号：80111970

### (2) 研究分担者

豊岡尚樹 (TOYOOKA, Naoki)  
富山大学・大学院理工学研究部(工学)・  
教授  
研究者番号：10217565

安東嗣修 (ANDOH, Tsugunobu)  
富山大学・大学院医学薬学教育部(薬学)・  
准教授  
研究者番号：50333498

### (3) 研究協力者

辻井謙一郎 (TSUJII, Kenichiro)  
富山大学・大学院医学薬学教育部(薬学)・  
大学院生

本間あずさ (HONMA, Azusa)  
富山大学・大学院医学薬学教育部(薬学)・  
大学院生

桑園 崇 (KUWAZONO, Takashi)

富山大学・大学院医学薬学教育部(薬学)・  
大学院生

真野陽介 (MANO, Yousuke)  
富山大学・大学院医学薬学教育部(薬学)・  
大学院生

高橋遼平 (TAKAHASHI, Ryohei)  
富山大学・大学院医学薬学教育部(薬学)・  
大学院生

吉田哲郎 (YOSHIDA, Tetsuro)  
富山大学・医学薬学教育部(薬学)・学部  
生

高山祐輔 (TAKAYAMA, Yusuke)  
富山大学・医学薬学教育部(薬学)・学部  
生

鈴木一成 (SUZUKI, Kazunari)  
富山大学・医学薬学教育部(薬学)・学部  
生

木村優佑 (KIMURA, Yuusuke)  
富山大学・医学薬学教育部(薬学)・学部  
生

朝井綾菜 (ASAI, Ayana)  
富山大学・医学薬学教育部(薬学)・学部  
生