

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：32645

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659595

研究課題名(和文) IL-27による樹状細胞とマクロファージを用いた新しい抗腫瘍免疫細胞療法の開発

研究課題名(英文) Development of a new cancer immunotherapy with dendritic cells and macrophages by IL-27

研究代表者

久田 将之 (HISADA, Masayuki)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：50385100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、IL-27を用いた癌免疫療法への応用を目指して、以下の3点について明らかにした。(1) IL-27がLPSと共にマクロファージを活性化しSTAT1/NF- $\kappa$ B/MAPKsを介して一酸化酸素産生を増強すること、(2) IL-27がpoly(I:C)と協調的にSTAT1/IRF-1を介し腫瘍細胞でのTLR3とTRAIL発現を増強し腫瘍増殖を抑制すること、(3) IL-27とSCFで造血幹細胞から分化増殖したミエロイド系前駆細胞から分化誘導した樹状細胞を用いて癌ワクチン療法への応用の可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)： In the present study, we have elucidated following three new things aiming at a application for cancer immunotherapy with IL-27; (1) IL-27 together with LPS augments nitric oxide production in macrophages through STAT1/NF- $\kappa$ B/MAPKs, (2) IL-27 enhances the expression of TRAIL and TLR3 in tumors through STAT1/IRF-1 and inhibits their tumor growth in cooperation with poly(I:C), partly in a TRAIL-dependent manner, (3) dendritic cells generated from myeloid progenitor cells differentiated and expanded by IL-27 and SCF can be potentially applied for dendritic-based therapeutic cancer vaccines.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：IL-27 抗腫瘍効果 樹状細胞

## 1. 研究開始当初の背景

我々は、2004年にIL-27の抗腫瘍効果を最初に報告(Hisada et al. *Cancer Res.* 64, 1152-6, 2004)して以後、その作用機序等について検討を行ってきた。その結果、IL-27は腫瘍の性質により、CD8<sup>+</sup>T細胞を介する機構、NK細胞による抗体依存性の細胞傷害活性を介する機構、血管新生阻害活性を有するケモカイン(IP-10、MIGなど)を介する機構、直接腫瘍細胞に作用し細胞増殖を抑制機構など複数の機構を介していることを明らかにしてきた。また、我々は、IL-27が直接造血幹細胞に作用し分化増殖を促進する能力を有していることも明らかにした(Seita et al. *Blood* 111, 1903-12, 2008)。

## 2. 研究の目的

本研究では、IL-27の抗腫瘍効果の作用機序に関する基礎的研究をさらに進めると共に、IL-27によるミエロイド系前駆細胞への分化増殖の誘導機構やその効果について明らかにし、さらに、これを用いた癌治療を目指した新しい免疫細胞療法を開発することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) マウス腹腔浸透性マクロファージの調製とIL-27の反応性の解析

野生型C57BL/6マウスおよびSTAT1遺伝子欠損マウスに3%チオグリコレート培地1mlを腹腔内投与した4日後、腹腔内に浸出したマクロファージをPBSで回収し、10%FBS存在下で1時間培養しディッシュに接着した細胞をマクロファージとして用いた。このマクロファージを各種阻害剤非存在下および存在下でIL-27およびLPSで刺激し、その形態変化を写真にとり、培養上清を用いて市販のGriess試薬で一酸化窒素(NO)量を定量、細胞からRNAを抽出しリアルタイムRT-PCRで誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)mRNAを定量した。

### (2) ヒトメラノーマ腫瘍のIL-27に対する感受性の解析とin vivoでの抗腫瘍効果解析

3種類のヒトメラノーマ腫瘍SK-MEL-13、-28、-37(米国Memorial Sloan-Kettering癌センターOld博士より分与)を、IL-27とpoly(I:C)単独および両方で、抗TRAIL抗体非存在下および存在下で刺激し、写真により形態変化、<sup>3</sup>Hチミジンの取り込みにより細胞増殖、細胞よりRNAを抽出し定性およびリアルタイムRT-PCRによりmRNA発現、細胞可溶液を調製しウエスタンブロットにより蛋白レベルでの発現解析、FACSを用いて細胞表面分子の発現解析と細胞死解析を行った。また、標的分子を特異的なsiRNAを用いてノックダウンし機能解析を行った。さらに、SK-MEL-37細胞をNOD/SCIDマウスの皮下に植え、1週間後から毎週IL-27とpoly(I:C)の単独および両者一緒に投与し、腫瘍の大き

さを測定した。

### (3) IL-27による骨髄造血幹細胞の分化増殖と機能解析

マウス骨髄細胞をIL-27とSCF単独および両方で培養し、経時的に増えた細胞数を測定し、FACSによるcellularity解析を行った。次に、分化増殖した細胞を、さらに通常の樹状細胞(DC)へ分化誘導するGM-CSF+IL-4で1週間培養し未熟DCに分化し、卵白アルブミン(OVA)非存在下および存在下LPSで成熟化して細胞表面分子の発現をFACS解析、抗原提示能力をOVA特異的なOT-II由来CD4<sup>+</sup>T細胞の増殖を<sup>3</sup>Hチミジンの取り込みで測定した。さらに、このOVAパルスした成熟DCをマウス皮下投与し、その4週間後にEG7(OVA遺伝子を導入したEL-4)胸腺腫を植え腫瘍の大きさを経時的に測定した。

## 4. 研究成果

### (1) IL-27とLPSによる相乗的マクロファージの活性化とNO産生増強

マクロファージへのIL-27の作用は炎症性サイトカイン産生を抑制するという報告もあり、抗腫瘍効果との関連がはっきりしない。そこで、3%チオグリコレート培地を腹腔内投与し調製した腹腔浸透性マクロファージを用いて、IL-27の効果を調べた。その結果、IL-27はLPSと相乗的に誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)mRNA発現およびNO産生を増強した。この時、LPSの受容体TLR4mRNA発現を増強し、STAT1欠損マウスやNF- $\kappa$ Bの阻害剤、p38, ERK, JNKなどのMAPKの阻害剤によりNO産生が低下した。以上より、IL-27は腫瘍内浸潤したマクロファージからSTAT1およびNF- $\kappa$ B、MAPKsを介して抗腫瘍作用を有するNO産生を誘導することが明らかになった(Shimizu et al. *Immunobiology* 218, 628-634, 2013)。

### (2) IL-27とpoly(I:C)によるTLR3とTRAIL発現誘導を介した協調的抗腫瘍効果の増強

3種類のヒトメラノーマ細胞をIL-27で刺激すると細胞増殖が抑制され、その際TRAIL発現がmRNAレベルで増強された。細胞表面上での発現程度は、3種類の細胞で異なっていたが、TRAILの中和抗体によりいずれの細胞でも増殖抑制がキャンセルされた。次に、抗腫瘍作用を有することが報告されているpoly(I:C)をIL-27と一緒に加えると、さらに強い増殖抑制作用を示した。この時、poly(I:C)の受容体であるTLR3発現もIL-27で誘導され、さらにpoly(I:C)と協調的に増強され、この効果もTRAILの中和抗体によりキャンセルされた。最後に、NOD/SCIDマウスにヒトメラノーマを接種した1週間後から毎週IL-27とpoly(I:C)単独、または両方を投与すると、poly(I:C)の高用量では、poly(I:C)単独でも強い腫瘍増殖抑制効果を示したが、低用量ではIL-27をさらに加えることにより増殖抑

制効果が増強された。以上より、IL-27 が、poly(I:C)と協調的に STAT1/IRF-1 を介し腫瘍細胞での TLR3 と TRAIL 発現を促進し抗腫瘍効果を増強することが明らかになった (Chiba et al. *PLoS One* 2013; 8(10):e76159)。

(3) IL-27 で分化増殖したミエロイド系前駆細胞から分化誘導した DC を用いた癌ワクチン療法

マウス骨髄細胞を IL-27 および SCF 単独と IL-27+SCF で培養すると、両方を入れた時のみ骨髄細胞の増殖が強く見られ2ヶ月に渡り細胞が増えてきた。この時、細胞表面マーカーの FACS 解析を行ったところ、c-Kit<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>の集団と c-Kit<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>の集団の大きく2つの細胞集団が増えてきていた。そこで、in vitro で1ヶ月以上培養し増幅した細胞を、通常の DC へ分化誘導する条件である GM-CSF+IL-4 で培養すると、骨髄細胞から取って直ぐ分化誘導した DC と同様に、強い抗原提示能力を有する DC に分化した。さらに、OVA をパルスした DC をマウスに免疫した1ヶ月後、EG7 胸腺腫を植えると強い抗腫瘍ワクチン作用を示した。以上より、IL-27 を用いて DC 前駆細胞を長期間に渡り分化増殖させ、必要に応じて DC に分化誘導しワクチン療法と用いる新しい免疫細胞療法の可能性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 22 件)

1. Fujiwara S, Nagai H, Shimoura N, Oniki S, Yoshimoto T, Nishigori C. Intratumoral CD4<sup>+</sup> T lymphodepletion sensitizes poorly immunogenic melanomas to immunotherapy with an OX40 agonist. *J. Invest. Dermatol.* 2014 Jan 27. doi: 10.1038/jid.2014.42. 査読有
2. Sumi T, Katsumata K, Katayanagi S, Nakamura Y, Nomura T, Takano K, Kasuya K, Shimadzu M, Tsuchida A. Examination of prognostic factors in patients undergoing surgery for colorectal perforation: A case controlled study. *Int J Surg.* 2014; doi: 10.1016/j.ijsu.2014.03.021. 査読有
3. Nagakawa Y, Kasuya K, Bunso K, Hosokawa Y, Kuwabara H, Nakagima T, Osakabe H, Tsuchiya T, Itoi T, Tsuchida A. Usefulness of multi-3-dimensional computed tomograms fused with multiplanar reconstruction images and peroral cholangioscopy findings in hilar cholangiocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2014; 21(4):256-62. 査読有
4. Honjo M, Moriyasu F, Sugimoto K, Oshiro H, Sakamaki K, Kasuya K, Nagai T, Tsuchida A, Imai Y. Relationship between the liver tissue shear modulus and histopathologic findings analyzed by intraoperative shear wave elastography and digital microscopically assisted morphometry in patients with hepatocellular carcinoma. *J Ultrasound Med.* 2014; 33(1):61-71. 査読有
5. Wu W, Takanashi M, Borjigin N, Ohno SI, Fujita K, Hoshino S, Osaka Y, Tsuchida A, Kuroda M. MicroRNA-18a modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3 during gastric adenocarcinogenesis. *Br J Cancer.* 2013; 108(3):653-61. 査読有
6. Nagakawa Y, Matsudo T, Hijikata Y, Kikuchi S, Bunso K, Suzuki Y, Kasuya K, Tsuchida A. Bacterial contamination in ascitic fluid is associated with the development of clinically relevant pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy. *Pancreas.* 2013; 42(4):701-6. 査読有
7. Qu N, Xu M, Mizoguchi I, Furusawa J, Kaneko K, Watanebe K, Mizuguchi J, Itoh M, Kawakami Y, Yoshimoto T. Pivotal roles of T-helper 17-related cytokines, IL-17, IL-22 and IL-23, in inflammatory diseases. *Clin. Dev. Immunol.* 2013;2013:968549. doi: 10.1155/2013/968549. 査読有
8. Chiba Y, Mizoguchi K, Mitobe I, Higuchi K, Nagai H, Nishigori C, Mizuguchi J, Yoshimoto T. IL-27 enhances the expression of TRAIL and TLR3 in human melanomas and inhibits their tumor growth in cooperating with a TLR3 agonist poly(I:C) partly in TRAIL-dependent manner. *PLoS One* 2013; 8(10):e76159. doi: 10.1371/journal.pone.0076159. 査読有
9. Mizoguchi I, Yoshimoto T, Katagiri S, Mizuguchi J, Tauchi T, Kimura Y, Inokuchi K, Ohyashiki JH, Ohyashiki K. Sustained up-regulation of effector natural killer cells in chronic myeloid leukemia after discontinuation of imatinib. *Cancer Sci.* 104, 1146-1153, 2013. 査読有
10. Nakajima K, Maekawa Y, Kataoka K, Ishifune C, Nishida J, Arimochi H, Kitamura A, Yoshimoto T, Tomita S, Nagahiro S, Yasutomo K. The ARNT-Stat3 axis regulates the differentiation of intestinal intraepithelial TCRαβ<sup>+</sup>CD8α<sup>+</sup> cells. *Nat. Commun.* 2013; 4:2112. doi: 10.1038/ncomms3112. 査読有
11. Shimizu M, Ogura K, Mizoguchi I, Chiba Y, Higuchi K, Ohtsuka H, Mizuguchi J, Yoshimoto T. IL-27 promotes nitric oxide production induced by LPS through STAT1, NF-κB and MAPKs. *Immunobiology* 2013; 218:628-634. 査読有
12. Xu M, Takanashi M, Oikawa K, Nishi H, Isaka K, Yoshimoto T, Ohyashiki J, Kuroda M. Identification of a novel role of septin 10 in paclitaxel-resistance in cancers through a functional genomics screen. *Cancer Sci.* 2012; 103(4):821-827. 査読有
13. Suzukawa M, Morita H, Nambu A, Arae K, Shimura E, Shibui A, Yamaguchi S, Suzukawa K, Nakanishi W, Oboki K, Kajiwara N, Ohno T, Ishii A, Körner H, Cua DJ, Suto H, Yoshimoto T, Iwakura Y, Yamasoba T, Ohta K, Sudo K, Saito H, Okumura K, Broide DH, Matsumoto K,

- Nakae S. Epithelial cell-derived IL-25, but not Th17 cell-derived IL-17 or IL-17F, is crucial for murine asthma. *J Immunol.* 2012; 189(7):3641-3652. 査読有
14. 久田将之、河北英明、石崎哲央、井上敬一郎、土田明彦、青木達哉：劇症型 A 群溶連菌感染症 (TSLs) を呈した骨盤腹膜炎の 1 例、*日本外科系連合学会誌*、2012; 37 (4):869-75. 査読無
  15. 久田将之、勝又健次、河北英明、石崎哲央、高木融、土田明彦、青木達哉、佐藤栄一：術前診断しえた侵襲性血管粘膜腫瘍の 1 例、*日本外科系連合学会誌*、2012; 37 (6):1147-52. 査読無
  16. 久田将之、和田建彦、土田明彦、青木達哉：下部消化管の robotic surgery、*臨床雑誌「外科」*、2012; 74 (8)別:829-33. 査読無
  17. 千葉祐規乃、溝口出、森嶋紀子、徐明利、善本隆之：サイトカインのすべて IL-27、*臨床免疫・アレルギー科*、2012; 57 (Suppl. 21):172-183. 査読無
  18. 太田裕士、徐明利、溝口出、高梨正勝、須藤カツ子、黒田雅彦、善本隆之、粕谷和彦、土田明彦、畝崎榮：DC ワクチンをリンパ節投与した際の局所滞留性と免疫誘導能の検討、*東京医科大学雑誌*、2012; 70 (4):444-449. 査読有
  19. Kasuya K, Nagakawa Y, Suzuki M, Suzuki Y, Kyo B, Suzuki S, Matsudo T, Itoi T, Tsuchida A, Aoki T. Combination therapy of gemcitabine or oral S-1 with the anti-VEGF monoclonal antibody bevacizumab for pancreatic neuroendocrine carcinoma. *Exp Ther Med.* 2012; 3(4):599-602. 査読有
  20. Kasuya K, Suzuki M, Nagakawa Y, Suzuki Y, Kikuchi S, Kyo B, Matsudo T, Itoi T, Tsuchida A, Aoki T. Administration of anti-vascular endothelial growth factor antibody following hepatectomy does not inhibit remnant liver regeneration or growth of remnant metastases. *Exp Ther Med.* 2012; 3(2):347-350. 査読有
  21. Tsuchida A, Nagakawa Y, Kasuya K, Kyo B, Ikeda T, Suzuki Y, Aoki T, Itoi T. Computed tomography virtual endoscopy with angiographic imaging for the treatment of type IV-A choledochal cyst. *World J Gastroenterol.* 2012; 18(28):3761-4. 査読有
  22. Kasuya K, Oshiro H, Saito K, Suzuki Y, Kikuchi S, Kyo B, Matsudo T, Nagakawa Y, Itoi T, Tsuchida A. Comparison of preoperative images with gross and histopathological findings of liver slices in patients with liver metastases from colorectal cancer after chemotherapy. *Hepatogastroenterology.* 2012; 59(116):981-5. 査読有
- [学会発表] (計 23 件)
1. 善本隆之：サイトカインによる免疫制御法 Katagiri, S., Mizoguchi, I., Yoshimoto, T., Mizuguchi, J., Ohyashiki, J.H., Tauchi, T., Inokuchi, K., and Ohyashiki, K. The percentage of effector populations of NK cells correlated highly with sustained CMR with or without imatinib in chronic myeloid leukemia patients. 18th Congress of the European Hematology Association. Stockholm, Sweden, Jun. 13-16, 2013.
  2. Yoshimoto, T., Mizoguchi, I., Hisada, M., and Mizuguchi, J. New approach for DC-mediated cancer vaccine using IL-27-expanded myeloid progenitor cells. 第 72 回日本癌学会学術総会(2013)10 月 3-5 日、横浜
  3. Katagiri, S., Mizoguchi, I., Yoshimoto, T., Ohyashiki, J.H., Tauchi, T., Inokuchi, K., and Ohyashiki, K. Long-term up-regulation of effector NK cells in CML after stopping imatinib. 第 75 回日本血液学会学術集会(2013)10 月 11-13 日、横浜
  4. 古澤純一、溝口出、水戸部佳奈、樋口要、金子幸太郎、角田廉、水口純一郎、久田将之、粕谷和彦、土田明彦、善本隆之：IL-27 による DC 前駆細胞の分化・増殖誘導、第 90 回東京医科大学・東京薬科大学・免疫アレルギー研究会(2013)11 月 5 日、東京
  5. 古澤純一、水戸部佳奈、溝口出、金子幸太郎、角田廉、樋口要、善本隆之：IL-6/IL-12 ファミリーサイトカイン IL-27 による DC 前駆細胞の分化・増殖誘導、東京医科大学記念館ポスター発表懇談会(2013)11 月 28 日、東京
  6. Furusawa, J., Mizoguchi, I., Mizuguchi, J., and Yoshimoto, T. IL-27 promotes the differentiation of bone marrow cells into DC progenitor cells. 第 42 回日本免疫学会総会(2013)12 月 11-13 日、幕張
  7. 古澤純一、溝口出、水戸部佳奈、樋口要、金子幸太郎、角田廉、水口純一郎、久田将之、粕谷和彦、土田明彦、善本隆之：癌 DC ワクチン療法への応用を目指した IL-27 を用いた DC 前駆細胞の分化・増殖誘導法の開発、医薬工 3 大学包括的連携推進シンポジウム(2013)12 月 14 日、東京
  8. 久田将之、和田建彦、石崎哲央、河北英明、村越雄介、土田明彦、青木達哉：当科における大腸癌レイウスの治療成績と方針、第 48 回日本腹部救急医学学会総会 (2012) 3 月 15 日、金沢
  9. 久田将之、和田建彦、石崎哲央、河北英明、村越雄介、土田明彦、青木達哉：ロボット支援手術 Davinci を用いた完全腹腔鏡下前

- 方切除術と吻合方の工夫、第 37 回外科系連合学会 (2012) 6 月 29 日、九州
10. 久田将之、和田建彦、石崎哲央、河北英明、村越雄介、土田明彦、青木達哉：当科における完全腹腔鏡下前方切除術、第 67 回日本消化器外科学会 (2012) 7 月 18 日、富山
  11. 久田将之、石崎哲央、林田康治、檜崎克典、勝又健次、高木融、土田明彦：当科における経肛門的引抜き法による完全腹腔鏡下前方切除術を行った 3 例、第 74 回日本臨床外科学会総会 (2012) 11 月 29 日、東京
  12. 久田将之、石崎哲央、林田康治、檜崎克典、河北英明、勝又健次、土田明彦：腹腔鏡下手術と手術支援ロボット Davinci をハイブリッドさせて完全腹腔鏡下前方切除術、第 25 回日本内視鏡外科学会総会 (2012) 12 月 8 日、神奈川
  13. Hisada, M., Wada, T., Ishizaki, T., Kawakita, H., Tsuchida, A., and Aoki, T. Trial of total laparoscopic low anterior resection. XXV ISUCRS Biennial Congress. Bologna, Italy, Jun. 26, 2012.
  14. 太田裕士、徐明利、溝口出、高梨正勝、須藤カツ子、黒田雅彦、善本隆之、粕谷和彦、土田明彦、畝崎榮：DC ワクチンをリンパ節投与した際の局所滞留性と免疫誘導能の検討、第 132 年会日本薬学会(2012)3 月 28-31 日、札幌
  15. Nagaoka, K., Takahara, M., Yoshimoto, T., Teruya, T., Shiroma, H., and Maekawa, R. Efficient antigen presentation and induction of anti-tumor immunity by dendritic cells loaded with antigens by electroporation. American Association of Cancer (AACR) Annual Meeting 2012, Chicago, IL, USA, Mar. 31-Apr. 4, 2012.
  16. 溝口出、千葉祐規乃、徐明利、樋口要、水口純一郎、善本隆之：IL-27 と Poly(I:C) による協調的 TRAIL と TLR3 発現増強を介したメラノーマ腫瘍増殖の TRAIL 依存的抑制、第 87 回東京医科大学・東京薬科大学・免疫アレルギー研究会(2012)5 月 29 日、東京
  17. 長岡孝治、高原将司、三木健次、善本隆之、照屋剛、城間寛、神垣隆、前川隆司：エレクトロポレーション法で抗原導入した樹状細胞は高い抗原提示能を有し、生体内投与により高い抗腫瘍効果を示す、第 22 回日本樹状細胞研究会(2012)6 月 15 日、福島
  18. Yoshimoto, T., Mizoguchi, I., Katagiri, S., Mizuguchi, J., Ohyashiki, J., and Ohyashiki, K. Activation levels of NK and CD8<sup>+</sup> T cells correlate with sustained CMR after discontinuation of imatinib in CML patients. 第 71 回日本癌学会学術総会(2012)9 月 19-21 日、札幌
  19. Mizoguchi, I., Mizuguchi, J., and Yoshimoto, T. Cooperative growth inhibition of human melanomas by IL-27 and a TLR3 agonist poly(I:C) in TRAIL-dependent manner. 第 71 回日本癌学会学術総会(2012)9 月 19-21 日、札幌
  20. Nagaoka, K., Miki, K., Yoshimoto, T., Teruya, T., Shiroma, H., and Maekawa, R. Dendritic cells loaded with antigen by electroporation induce strong anti-tumor immunity *in vivo*. 第 71 回日本癌学会学術総会(2012)9 月 19-21 日、札幌
  21. Nagaoka, K., Miki, K., Yoshimoto, T., Kamigaki, T., and Maekawa, R. Comparison of antigen-loading methods into dendritic cells with protein, mRNA or peptides derived ovalbumin for antigen presenting activity. The 12<sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells. Daegu, Korea, Oct. 7-11, 2012.
  22. Shimizu, M., Mizoguchi, I., Mizuguchi, J., and Yoshimoto, T. Induction of nitric oxide by macrophages stimulated with IL-27 and lipopolysaccharide through STAT1, NF- $\kappa$ B and MAPKs. 第 41 回日本免疫学会総会 (2012)12 月 5-7 日、神戸
  23. Katagiri, S., Mizoguchi, I., Yoshimoto, T., Mizuguchi, J., Ohyashiki, J.H., and Ohyashiki, K. Activation levels of natural killer cells and CD8<sup>+</sup> T cells correlate highly with sustained complete molecular response after discontinuation of imatinib in chronic myeloid leukemia patients. 2012 ASH Annual Meeting and Exposition. Atlanta GA, USA, Dec. 8-11, 2012.
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
久田 将之 (HISADA, Masayuki)  
東京医科大学・医学部・講師  
研究者番号：50385100
  - (2)研究分担者  
土田 明彦 (TSUCHIDA, Akihiko)  
東京医科大学・医学部・教授  
研究者番号：50207396  
善本 隆之 (YOSHIMOTO, Takayuki)  
東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：80202406

(3)連携研究者 なし