

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460371

研究課題名(和文)細胞の分化及び生存に影響を及ぼす新たなRNA代謝機構

研究課題名(英文)A novel RNA metabolism involved in cell differentiation and survival

研究代表者

坂本 修士 (Shuji, Sakamoto)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・准教授

研究者番号：80397546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：1. NF90 もしくは NF90-NF45複合体は、microRNA生合成、mRNA安定化、翻訳抑制、ウイルスRNAの複製、転写に関与することが知られている。本研究で我々は、個体レベルで、NF90-NF45複合体が骨格筋病のひとつである中心核病(筋分化異常)を引き起こし、その病態の発症がNF90-NF45複合体によるmiR-133a生合成抑制を介したdynamin 2(中心核病の原因遺伝子)の発現増加に起因することを見出した。

2. NF90による蛋白質合成抑制能を介したATPの収支バランスの制御を、培養細胞を用いてIn vitroの系で検証を試みたが、その制御を確認するに至らなかった。

研究成果の概要(英文)：1. The nuclear factor 90 (NF90) or the complex of NF90 with NF45 is known to be involved in microRNA biogenesis, mRNA stabilization, translational repression, replication of viral RNA and transcription in vitro. In this study, we found that the NF90-NF45 complex induces centronuclear myopathy through increased expression of dynamin 2, a causative gene of the disease, by an NF90-NF45-induced reduction of miR-133a expression in vivo.

2. We observed that the NF90-overexpressing HEK293 cells did not exhibit longer-term survival than the control cells transfected with mock plasmids when glucose was withdrawn, suggesting that cellular energy balance was not influenced by overexpression of NF90 in cultured cells in vitro.

研究分野：分子生物学

キーワード：二本鎖RNA結合蛋白質 microRNA生合成 miRNA 筋分化 中心核病 Dynamin 2 NF90 NF45

1. 研究開始当初の背景

(1) MicroRNA (miRNA)は20~24塩基からなる小分子RNAで相補的、一部相補的なメッセンジャーRNAの翻訳を抑制する。miRNAはこの機能を通じ、多くの生体制御に関与する。一方、miRNAの発現量の変動は、様々な疾患を引き起こす。特に「がん」では、多くのmiRNAの産生が低下しており、産生低下したmiRNAの中にはがんを抑制するmiRNA (anti-oncomi-R)が含まれ、anti-oncomiRの産生低下が「がん化」の一因であると考えられている。

(2) miRNAの生合成の主たる経路として、下記のことが分かっている。miRNA遺伝子から転写された初期転写産物(primary-miRNA: pri-miRNA)は核内でDrosha/DGCR8により一本鎖RNA領域が切断され前駆体miRNA(precursor-miRNA: pre-miRNA)となる。その後、pre-miRNAは核外に移行し、細胞質でDicerによりループ構造が切断され短い二本鎖RNAとなる。産生された短い二本鎖RNAはRISCによってほどかれた後、一方の鎖は分解されもう一方の鎖が機能的なmiRNAとなる。このようにmiRNA生合成の正の制御に関しては解析が進んでいる。一方で、当該経路の負の制御機構に関しては不明な点が多い。我々はこれまでに二本鎖RNA結合タンパク質であるNuclear Factor 90 (NF90)とその結合パートナーであるNF45の複合体(NF90-NF45)がpri-miRNAに結合することでDrosha/DGCR8の接近を阻害し、pri-miRNAのプロセッシングを抑制することを見出した (Sakamoto *et al.*, MCB 2009)。

(3) これまでに我々を含め複数のグループの解析により、NF90もしくはNF90-NF45は非小細胞肺癌、卵巣がん、乳がん、肝細胞がんのがん部で発現が高いことが示されている。また、NF90のノックダウンは、様々な組織由来のがん細胞株の増殖を抑制することも分かっている。さらに我々は、肝細胞がんにおいてNF90-NF45がanti-oncomiRのひとつであるmiR-7の生合成を負に制御することを見出した。加えて、肝細胞がん細胞株においてNF90-NF45のノックダウンやmiR-7の過剰発現は、miR-7の標的因子である上皮成長因子受容体(EGFR)の発現を低下させることも明らかとした。EGFRからの細胞内シグナル伝達は、細胞増殖を促進することが知られている。これらの知見より、NF90-NF45の発現増加は、miR-7の生合成抑制を介してEGFRの発現を上昇させることでがん細胞の増殖を促進する可能性が考えられた。

(4) NF90はmiRNA生合成調節以外にも、単独で転写やmRNAの安定化に寄与することが知られている。しかしこれらの知見は、*In vitro*の解析で得られたもので、NF90単独の作用が個体に及ぼす影響に関してはほとんど解析が進んでいない。そこで我々はNF90

を単独で過剰発現させたマウス(NF90 Tg マウス)を作製し表現型解析を行った。その結果、NF90 Tg マウスは骨格筋及び心筋においてミトコンドリアが空胞変性しそれに伴い筋量・筋力及び心機能の低下が確認された (Higuchi, Sakamoto *et al.*, PLoS One 2012)。一方で、興味深いことに、NF90 Tg マウスは、筋組織でミトコンドリアが変性しているにも関わらず、長期生存が可能である。

2. 研究の目的

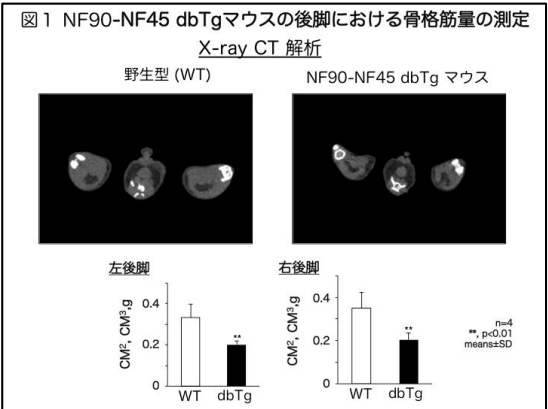
(1) 研究当初の背景(3)にあるように、我々は発現増加したNF90-NF45がmiRNA生合成抑制を介してがんなどの高次生命現象の制御に関与することを *In vitro* の解析で見出してきた。そこで本研究の主な目的は、「NF90-NF45発現上昇 miRNA生合成抑制 高次生命現象発生」の一連の流れを、個体レベルで検証することにある。

(2) 研究当初の背景(4)にあるように、NF90 Tg マウスは、筋組織のミトコンドリアが変性しているにも関わらず、長期生存が可能である。これまでの我々の解析により、野生型マウスと比較しNF90 Tg マウスの骨格筋ではタンパク質合成速度が有意に低下していることが分かっている (Higuchi, Sakamoto *et al.*, PLoS One 2012)。細胞の活動の中で、タンパク質合成はエネルギー源であるATPを大量に消費する活動であることが知られている。従って、NF90 Tg マウスの長期生存は、タンパク質合成低下に伴うATP消費量の減少に起因する可能性が考えられた。そこで本課題内で、この作業仮説を培養細胞を用いて検証した。

3. 研究の方法

(1) NF90-NF45の高発現がmiRNA生合成抑制を介して高次生命現象へ及ぼす影響を個体レベルで確認するためにNF90-NF45を全身で過剰発現した遺伝子改変マウス (NF90-NF45 dbTg マウス)を作製し、表現型を解析した。

(2) 低栄養条件下におけるNF90過剰発現細胞の長期生存を *In vitro* で解析するために、NF90を安定に過剰発現したヒト胎児腎細胞HEK293細胞株及び発現プラスミドのみを遺

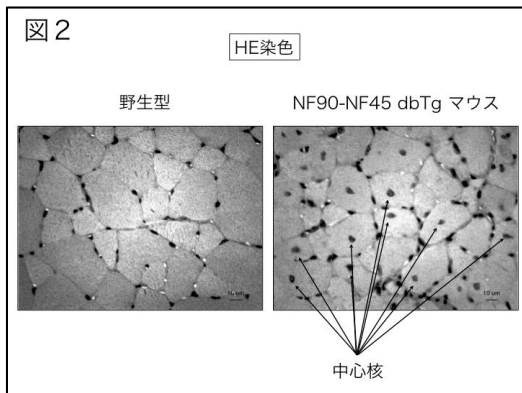


伝子導入し抗生剤でセレクションしたコントロール細胞株を樹立した。これらの細胞株を用いてグルコース非存在下における生存率を測定した。細胞の生存率測定は、トリパンプルー染色によって生細胞を識別し、トリパンプルー染色陰性細胞をカウントすることで測定した。

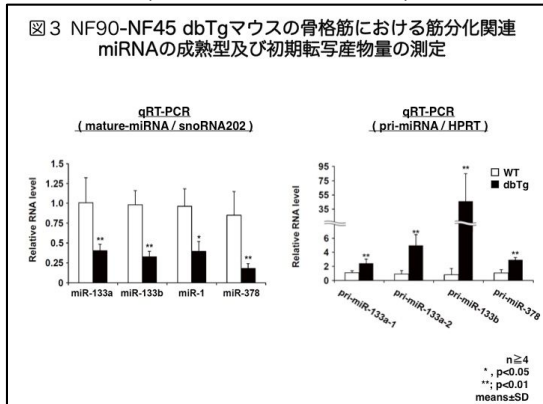
4. 研究成果

(1) NF90-NF45 dbTg マウスの外見的特徴としては、体が小さく、主要組織においては特に骨格筋で NF90-NF45 の過剰発現が確認された。X 線 CT 解析より、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋は野生型マウスと比較し有意に萎縮していることがわかった(図 1 右写真・グラフ内黒バー)。さらに NF90-NF45 が過剰発現している骨格筋の筋繊維は核が中心に局在していた(図 2)。

このような病態はヒトでも確認されており、筋疾患のひとつで「中心核病」と称されている。



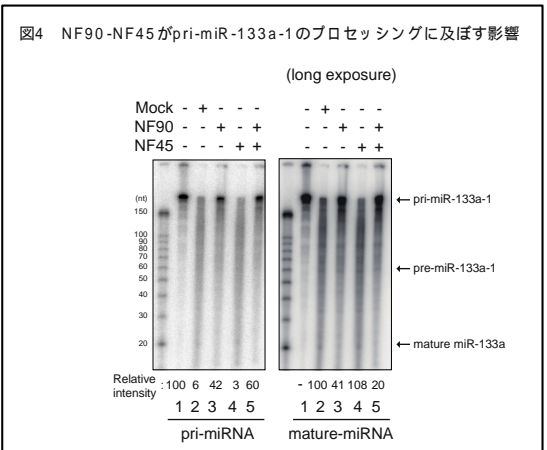
次に、野生型と比較した際の NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋における miRNA 量の変動を網羅的に測定するために、miRNA マイクロアレイ法を用いて解析を行った。その結果、野生型マウスと比較し NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋において 23 種類の miRNA が 0.5 倍以下に減少していた。それらの miRNA の中で、我々は筋分化に関連することが知られている miR-133a, miR-133b, miR-1, miR-378 に着目した。着目した miRNA に関してはリアルタイム PCR 法を用いて発現解析を行い、野生型と比較し NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋において有意に発現が低下していることを確認した(図 3 左グラフ黒バー)。上述のよ



うに NF90-NF45 は pri-miRNA のプロセッシングを抑制することで miRNA 生合成を負に制御する。そこで着目した miRNA に関して、野生型と NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋における pri-miRNA の発現をリアルタイム PCR 法により解析した。その結果、野生型と比較し NF90-NF45 dbTg マウスにおいて着目した miRNA の pri 体の発現は有意に増加していた(図 3 右グラフ黒バー)。

これらの結果は、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋において筋分化関連 miRNA の生合成が抑制され、pri 体の蓄積と成熟型 miRNA の産生低下が生じていることを示している。

本研究で着目した筋分化関連 miRNA の中で、miR-133a を欠損したマウスは NF90-NF45 dbTg マウスの表現型と同様に骨格筋において中心核病を引き起こすことが報告されている (Liu *et al.*, J Clin Invest 2011)。そこで我々は NF90-NF45 の過剰発現に伴う miR-133a の産生低下のメカニズムを解明するため、マウス骨格筋由来の細胞株である C2C12 細胞を用い pri-miR-133a-1 のプロセッシングにおける NF90-NF45 の影響を解析した。その結果、NF90 及び NF45 の過剰発現により pri-miR-133a-1 のプロセッシングは顕著に抑制されることが分かった(図 4 compare lanes 2 to 5)。また、NF90 及び NF45 の組換え蛋白質を用いた RNA ゲルシフト解析により、

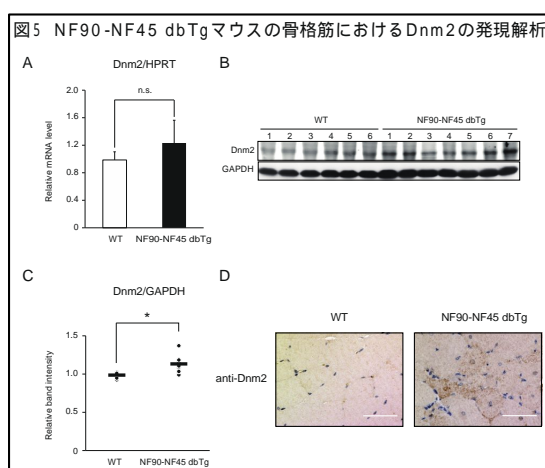


NF90-NF45 は pri-miR-133a-1 に直接結合することも明らかとなった。これらの解析結果は、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋において過剰発現した NF90-NF45 が pri-miR-133a-1 に結合し、そのプロセッシングを抑制することで miR-133a の産生を低下させることを示唆している。

次に NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋における中心核病の要因を明らかにするために miR-133a の標的因子の解析を試みた。miR-133a の標的として知られている Dynamin 2 (Dnm2) は、中心核病の原因遺伝子であり、Dnm2 の過剰発現マウスは中心核病を引き起こす (Liu *et al.*, J Clin Invest 2011)。そこで我々は、野生型と NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋における Dnm2 の発現を RNA 及び蛋白質レベルで解析した(図 5)。その結果、

両マウス間で Dnm2 の発現は RNA レベルでは有意な差は認められなかった(図 5A)。一方、蛋白質レベルでは NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋において Dnm2 の有意な発現増加が確認された(図 5B and C)。また免疫組織化学染色法においても、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋で Dnm2 の蓄積を確認することができた(図 5D)。これらの解析結果より、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋における中心核病は miR-133a の産生低下による Dnm2 の蓄積が要因のひとつであることが明らかとなった。

これらの研究成果に関しては、主な発表論文等の〔雑誌論文〕リスト4として発表した。



(2) 上記のように、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋では、NF90-NF45-miR-133a-Dnm2 経路が活性化することで中心核化を伴う筋萎縮を引き起こす。一方で NF90-NF45 は miR-133 に加え、miR-1 や miR-378 といった筋分化 miRNA の産生も抑制する(図 3)。従って、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋における中心核化は、Dnm2 以外の因子も関与する可能性が考えられる。そこで NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋において Dnm2 以外に miR-133, miR-1, miR-378 の標的となる候補因子を探索するためにマイクロアレイ解析を実施した。その結果、野生型マウスと比較し、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋において 725 遺伝子の発現が 2 倍以上増加していた。それらの遺伝子群より miR-133, -1, -378 の標的候補を miRNA 標的予測プログラムである TargetScan を用いて探索した。その結果が下記となる。

- miR-133 Targets: Aif11, Atp6ap2, Col8a1, Srgap3, Vat1

- miR-1 Targets: Anxa2, Anxa4, Atp6ap2, Atp6v1a, Azin1, Colo1b, G6pdx, H3f3b, Serp1, Sh3bgrl3, Zfp36

- miR-378 Targets: H3F3b, Vat1

次に、これらの中から、中心核化を引き起こすアクチンや微小管の制御に関与する因子

を Gene ontology 解析を用いて調べた。その結果、Aif11, Coro1b, G6pdx, Serp1, Sh3bgrl3 は中心核化を引き起こすアクチンや微小管の制御に関与することが示唆された。従って、NF90-NF45 dbTg マウスの骨格筋の中心核化には、NF90-NF45-miR-133-Dnm2 の経路に加え、miRNA の産生制御を介して上記 5 因子 (Aif11, Coro1b, G6pdx, Serp1, Sh3bgrl3) の発現変動が関与する可能性を見出すことができた。

(3) 低栄養条件下で NF90 が発現増加することで細胞が長期生存する可能性を検証するために、NF90 過剰発現 HEK293T 細胞株と発現プラスミドのみを導入したコントロール HEK293 細胞を用いて、細胞にとって主な ATP 供給源であるグルコース非存在下における両細胞の生存率を検討した。その結果、両細胞間で生存率の有意な相違は確認されなかった。このことより、現時点では、研究の目的欄の(2)に記載した NF90 によるタンパク質合成抑制能を介した ATP の収支バランスの制御を *In vitro* の系で確認するに至らなかった。

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)

Ochi T, Munekage K, Ono M, Higuchi T, Tsuda M, Hayashi Y, Okamoto N, Toda K, Sakamoto S, Oben JA, Saibara T. PNPLA3 is involved in hepatic fatty acid and triglyceride metabolism through XBP1 and modulation of endoplasmic reticulum stress in mice. *Hepato Res.* 46(6):584-92. 2016. 査読あり
DOI:10.1111/hepr.12587.

Sugiyama Y, Katayama S, Kameshita I, Morisawa K, Higuchi T, Todaka H, Kinoshita E, Kinoshita-Kikuta E, Koike T, Taniguchi T, Sakamoto S. Expression and phosphorylation state analysis of intracellular protein kinases using Multi-PK antibody and Phos-tag SDS-PAGE. *MethodsX.* 2:469-474. 2015. 査読あり
DOI:10.1016/j.mex.2015.11.007.

杉山 康憲、亀下 勇、坂本 修士. マルチ PK 抗体と Phos-tag を利用した細胞内リン酸化動態の新規解析法. *生物物理化学 電気泳動* 59(2), 82-84. 2015. 査読なし
DOI: 10.2198/electroph.59.82

Todaka H, Higuchi T, Yagyu KI, Sugiyama Y, Yamaguchi F, Morisawa K, Ono M, Fukushima A, Tsuda M, Taniguchi T, **Sakamoto S**.

Overexpression of NF90-NF45 Represses Myogenic MicroRNA Biogenesis, Resulting in Development of Skeletal Muscle Atrophy and Centronuclear Muscle Fibers.

Molecular and Cellular Biology. 35(13):2295-308. 2015. 査読あり
DOI: 10.1128/MCB.01297-14.

Ono M, Ogasawara M, Hirose A, Mogami S, Ootake N, Aritake K, Higuchi T, Okamoto N, **Sakamoto S**, Yamamoto M, Urade Y, Saibara T, Oben JA.

Bofutsushosan, a Japanese herbal (Kampo) medicine, attenuates progression of nonalcoholic steatohepatitis in mice.

Journal of Gastroenterology. 49(6):1065-73. 2014. 査読あり
DOI: 10.1007/s00535-013-0852-8.

Higuchi T, **Sakamoto S**, Kakinuma Y, Kai S, Yagyu K, Todaka H, Chi E, Okada S, Ujihara T, Morisawa K, Ono M, Sugiyama Y, Ishida W, Fukushima A, Tsuda M, Agata Y, Taniguchi T.

High Expression of Nuclear Factor 90 (NF90) Leads to Mitochondrial Degradation in Skeletal and Cardiac Muscles.

PLoS ONE. 7(8):e43340. 2012. 査読あり
DOI: 10.1371/journal.pone.0043340.

Sakamoto S, Wakae K, Anzai Y, Murai K, Tamaki N, Miyazaki M, Miyazaki K, Romanow WJ, Ikawa T, Kitamura D, Yanagihara I, Minato N, Murre C, Agata Y. E2A and CBP/p300 Act in Synergy To Promote Chromatin Accessibility of the Immunoglobulin Locus.

J Immunol. 188(11):5547-60. 2012. 査読あり
DOI: 10.4049/jimmunol.1002346.

Takaoka E, Sonobe H, Akimaru K, **Sakamoto S**, Shuin T, Daibata M, Taguchi T, Tominaga A. Multiple sites of highly amplified DNA sequences detected by molecular cytogenetic analysis in HS-RMS-2, a new pleomorphic rhabdomyosarcoma cell line.

Am J Cancer Res. 2(2):141-152. 2012. 査読あり
URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22432055>

[学会発表](計18件)

戸高寛, 樋口琢磨, 三輪武司, 森澤啓子, Lai Sylvia Chin See, 有川幹彦, 佐藤隆幸, 津田雅之, **坂本修士**. 過剰発現したNF90-NF45複合体は筋サテライト細胞発生のマスター因子であるPax7の発現増加を引き起こす.

Biochemistry and Molecular Biology 2015 2015. 12/1-4. 神戸ポートアイランド(神戸)

Lai Sylvia Chin See, 樋口琢磨, 杉山康憲, 森澤啓子, 戸高寛, 三輪武司, 津田雅之, **坂本修士**. 膵臓における二本鎖RNA結合タンパク質NF90及びNF45の機能解析.

Biochemistry and Molecular Biology 2015 2015. 12/1-4. 神戸ポートアイランド(神戸)

杉山康憲, 片山将一, 亀下勇, 森澤啓子, 樋口琢磨, 戸高寛, 木下英司, 木下-菊田恵美子, 小池透, **坂本修士**. 抗がん剤を処理したヒト白血病細胞HL-60の細胞内キナーゼの発現およびリン酸化動態の解析.

Biochemistry and Molecular Biology 2015 2015. 12/1-4. 神戸ポートアイランド(神戸)

三輪武司, 樋口琢磨, 戸高寛, 森澤啓子, Lai Sylvia Chin See, **坂本修士**. 肝細胞癌における二本鎖RNA結合タンパク質によるケモカイン, CXCL5の発現制御機構.

Biochemistry and Molecular Biology 2015 2015. 12/1-4. 神戸ポートアイランド(神戸)

杉山 康憲, 亀下 勇, **坂本 修士**. マルチPK抗体とPhos-tagを利用した細胞内リン酸化動態の新規解析法

第66回日本電気泳動学会総会, S1-10, 2015. 9/4. 東京工科大学(東京)

樋口琢磨, 安東徳子, 三輪武司, 戸高寛, 森澤啓子, Lai Sylvia Chin See, 杉山康憲, 津田雅之, **坂本修士**. 二本鎖RNA結合タンパク質が関与する肝細胞癌の新たな遊走能制御.

第87回日本生化学会大会 2014. 10/15-18. 国立京都国際会館(京都)

杉山康憲, 森澤啓子, 樋口琢磨, 戸高寛, 山口史佳, 安東徳子, **坂本修士**. マルチPK抗体とPhos-tagを利用した細胞内リン酸化シグナリング解析法.

第87回日本生化学会大会 2014. 10/15-18. 国立京都国際会館(京都)

Yamaguchi F, Todaka H, Higuchi T, Morisawa K, Sugiyama Y, **Sakamoto S**. Identification of a motif in NF90 protein that is involved in inhibition of microRNA biogenesis.

第36回日本分子生物学会 2013. 12/3-6. 神戸ポートアイランド(神戸)

Todaka H, Higuchi T, Yagyu K, Yamaguchi F, Morisawa K, Fukushima A, Tsuda M,

Sugiyama Y, **Sakamoto S**. NF90-NF45 complex impairs muscular maturation via blockade of miR-133 biogenesis. 第36回日本分子生物学会 2013. 12/3-6. 神戸ポートアイランド(神戸)
Higuchi T, Todaka H, Morisawa K, Yamaguchi F, Ono M, Sugiyama Y, Tsuda M, **Sakamoto S**. NF90-NF45 regulates an expression of EGFR through suppression of miR-7 biogenesis in hepatocellular carcinoma. 第36回日本分子生物学会 2013. 12/3-6. 神戸ポートアイランド(神戸)
Todaka H, Higuchi T, Yagyu K, Yamaguchi F, Morisawa K, Fukushima A, Tsuda M, Sugiyama Y, **Sakamoto S**. Overexpression of NF90-NF45 complex causes centronuclear muscle fibers through blockade of microRNA biogenesis. 第15回RNA学会年会 2013. 7/24-26. ひめぎんホール(愛媛)
Higuchi T, Todaka H, Yamaguchi F, Morisawa K, Ono M, Sugiyama Y, Tsuda M, **Sakamoto S**. Suppression of miR-7 biogenesis by NF90-NF45 complex in Hepatocellular Carcinoma. 第15回RNA学会年会 2013. 7/24-26. ひめぎんホール(愛媛)
戸高寛, 樋口琢磨, 矢生健一, 森澤啓子, 山口史佳, 池恩秀, 福島敦樹, 津田雅之, 杉山康憲, **坂本修士**. NF90-NF45複合体によるmiRNA産生調節を介した筋成熟抑制 第54回日本生化学会 中国・四国支部例会 2013. 5/31-6/1. 徳島大学大塚講堂(徳島)
樋口琢磨, 戸高寛, 池恩秀, 山口史佳, 森澤啓子, 小野正文, 杉山康憲, 津田雅之, **坂本修士**, 谷口武利. NF90及びNF45によるmiRNA-7生合成阻害を介した腫瘍化制御機構の解明 第54回日本生化学会 中国・四国支部例会 2013. 5/31-6/1. 徳島大学大塚講堂(徳島)
Todaka H, Higuchi T, Morisawa K, Yagyu K, Chi E, Yamaguchi F, Fukushima A, Tsuda M, Sugiyama Y, Taniguchi T, **Sakamoto S**. Regulation of muscular differentiation via NF90-NF45 complex-mediated alterations in microRNA production. 第35回日本分子生物学会 2012. 12/11-14. 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡(福岡)
Sakamoto S, Higuchi T, Todaka H, Chi E, Yamaguchi F, Morisawa K, Yagyu K, Sugiyama Y, Tsuda M, Taniguchi T. A mechanism for mitochondrial degradation caused by high expression of nuclear factor 90. 第35回日本分子生物学会 2012. 12/11-14. 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡(福

岡)
Higuchi T, Todaka H, Chi E, Yamaguchi F, Morisawa K, Sugiyama Y, Tsuda M, Taniguchi T, **Sakamoto S**. Regulation of miR-7 biogenesis by Nuclear Factor 90 (NF90) and NF45. 第35回日本分子生物学会 2012. 12/11-14. 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡(福岡)
戸高寛, 樋口琢磨, 森澤啓子, 矢生健一, 池恩秀, 山口史佳, 福島敦樹, 津田雅之, 杉山康憲, 谷口武利, **坂本修士**. RNA結合蛋白質NF90-NF45複合体による新たな筋分化制御機構. Control of muscular differentiation by NF90-NF45 complex. 第14回日本RNA学会年会 2012. 7/18-20. 東北大学百周年記念会館 川内萩ホール(仙台)

〔図書〕
該当なし

〔産業財産権〕
該当なし

〔その他〕
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本 修士 (Sakamoto, Shuji)
高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・准教授
研究者番号：80397546

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

戸高 寛 (Todaka, Hiroshi)
高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・助教
研究者番号：80769662

樋口 琢磨 (Higuchi, Takuma)
高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・助教
研究者番号：10754567