

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463115

研究課題名(和文) 口腔がんに対する新規がんペプチドワクチン療法の基礎的・臨床的研究

研究課題名(英文) Basic and clinical study of new peptide vaccine therapy for patients with oral cancer

研究代表者

宮崎 晃亘 (Miyazaki, Akihiro)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10305237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：口腔がん患者に対する IFA と INF 併用 SVN-2B ペプチドワクチン療法の臨床試験を継続した。併用療法はペプチド単剤よりも効果的にペプチド特異的 CTL が増加することが示され、新たな治療手段として有用と考えられた。

ALDH1 陽性細胞として口腔のがん幹細胞様細胞を分離し、高発現する SPRR1B 遺伝子を同定した。RASSF4 発現を抑制することで細胞増殖・維持に関わることが示された。さらに、新規口腔がん細胞株と CTL ラインを樹立した。CTL ラインは HLA-A24 拘束性に自家がん細胞を認識することが示された。より効果的ながんペプチドワクチン開発に向けて精密な抗原解析が治療戦略上極めて重要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We described a sequential clinical trial of SVN-2B peptide vaccine therapy in combination with incomplete Freund's adjuvant (IFA) and interferon (IFN)-alpha for patients with oral cancer. Results indicated that the combination therapy increased the frequency of peptide specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) more effectively than the peptide alone. This regimen may be useful as a new therapeutic modality.

We isolated oral cancer stem-like cells (CSCs) as aldehyde dehydrogenase 1 bright (ALDH1br) cells. SPRR1B gene was shown to be overexpressed in the ALDH1br cells, indicating that it has a role in cell growth and maintenance by suppression of RASSF4. Furthermore, we established an oral cancer cell line and an autologous CTL line. It was shown that the CTL line recognized autologous tumor cells in an HLA-A24-restricted manner. Precise analyses of the CTL-recognized antigens may provide us with substantial strategies toward developing a more effective cancer peptide vaccine.

研究分野：がん免疫療法

キーワード：がんペプチドワクチン がん抗原 口腔がん サバイビン がん免疫

### 1. 研究開始当初の背景

近年、がんに対する新しい治療法としてがんペプチドワクチン療法が注目されている。がんペプチドワクチン療法は抗原ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞(CTL)を増殖・活性化させ、がんの退縮さらには患者予後の改善を目指す治療法である。がん患者の体内にがん抗原ペプチドを投与することによりペプチド特異的 CTL を増強させ、T 細胞受容体(TCR)を介して HLA/ペプチド複合体を認識してがん細胞を傷害する。がん細胞には様々な蛋白が発現しており、これらの蛋白が断片化したペプチドが HLA class I 分子上に提示されているが、口腔がんを含む各種悪性腫瘍に高発現している survivin に着目し、そのアミノ酸配列より日本人に最も多い HLA-A\*2402 拘束性に抗腫瘍効果を発揮する SVN-2B ペプチドを同定した(引用文献)。HLA-A\*2402 陽性の口腔がん患者より末梢血を採取し、このペプチドと反応する CTL の検出を解析した。その結果、stage II 以上の口腔がん患者において、*in vitro* でペプチド特異的 CTL が高率に誘導された。また、これらの HLA-A\*2402 陽性口腔がん患者より誘導した CTL は SVN-2B を発現している HLA-A\*2402 陽性口腔がん細胞株に対して細胞傷害活性を有していた(引用文献)。以上のような基礎的研究を踏まえて、当科では 2003 年から進行・再発口腔がん患者を対象とした HLA-A\*2402 拘束性 SVN-2B ペプチドワクチン療法の第一相臨床試験を開始し、安全性と抗腫瘍効果を実証した(引用文献)。

本研究では、さらなる抗腫瘍効果を得るために、SVN-2B ペプチドに incomplete Freund's adjuvant (IFA)と interferon (IFN)- $\alpha$  を併用した臨床試験を遂行し、安全性と抗腫瘍効果ならびに免疫学的モニタリングを行った。さらに、複数のペプチドワクチンから患者ごとに最も適切なペプチドワクチンを選択投与する個別化がん免疫治療を目指した基礎的研究として、口腔の新規がん抗原の分離・同定、さらにはがん幹細胞特異抗原の分子メカニズムの解明を進めた。

### 2. 研究の目的

口腔がんに対する新規治療法として、がんペプチドワクチンの研究開発を目的とした。すなわち、分子免疫学的手法を用いてがんに対する T 細胞免疫応答を惹起する新規がん抗原を同定し、がんペプチドワクチンの創薬化を目指した。

### 3. 研究の方法

(1) 免疫応答増強剤を併用した SVN-2B ペプチドワクチン療法の安全性ならびに抗腫瘍効果の検討(第 相臨床試験)

以下の適応基準を満たした口腔がん患者を対象に、IFA と IFN- $\alpha$  を併用した SVN-2B ペプチドワクチン療法の臨床試験を施行した。組織学的に確定診断された口腔がんで

ある。腫瘍が HLA class I および survivin 遺伝子を発現している。根治手術が不可能である。計測可能評価病変の有無は問わない。HLA 型が HLA-A\*2402 である。年齢 20-90 歳。Performance States (PS) 3。重篤な臓器不全がない(白血球 3000/ $\mu$ l、ヘモグロビン値 8.0g/dl、血小板数 10.0 万/ $\mu$ l、血清クレアチニン値 1.5mg/dl、血清総ビリルビン値 1.5mg/dl、AST、ALT 正常上限値の 2 倍)。直前 1 か月間にいかなる前治療も受けていない。妊娠可能年齢の女性では妊娠していないこと。本研究の概要を説明し、本人からインフォームドコンセントが得られていること。適応外基準は、生命予後に影響を及ぼすような他の癌にすでに罹患している。免疫不全状態にある。脾摘術をうけている。ステロイド剤の投与を必要とする(治療に伴う急性アレルギー症状の処置用に投与した場合を除く)。臨床的に重篤な心疾患を有する。活動性の感染を有する。血液凝固障害を有する。抗凝固療法を行っている。授乳中である。経過の評価ができない。プロトコルに従う確約が得られない。過去に重篤な薬剤アレルギーの既往がある。その他、担当医が不適切と判定した症例。

IFN- $\alpha$  は IFN $\alpha$  (スミフェロン<sup>®</sup>)と PEG-IFN $\alpha$ -2a (ペガシス<sup>®</sup>)をそれぞれ 2 段階の投与量を設定した。

IFN $\alpha$  高用量群 (3 例):

ペプチド + IFA + IFN $\alpha$ 150 万 IU

IFN $\alpha$  低用量群 (2 例):

ペプチド + IFA + IFN $\alpha$  75 万 IU

PEG-IFN $\alpha$ -2a 高用量群 (3 例):

ペプチド + IFA + PEG-IFN $\alpha$ -2a 90 ug

PEG-IFN $\alpha$ -2a 低用量群 (2 例):

ペプチド + IFA + PEG-IFN $\alpha$ -2a 45 ug

投与方法はペプチド 1.0mg を 1.0ml の生理食塩水に溶解し、さらに IFA 1.0ml を加えてエマルジョン化したペプチド溶液 2.0ml を 2 週間隔で腫瘍周囲の皮下あるいは粘膜下に注射した。IFN $\alpha$  は週 2 回、PEG-IFN $\alpha$ -2a は週 1 回皮下注射した。ペプチドと IFA の混合液の注射日と IFN- $\alpha$  の注射日は 2 週間毎に同日になるように設定し、IFN- $\alpha$  投与 15 分後に同部位にペプチドと IFA の混合液を投与した。以上の投与を 2 週間ごとに 4 コース施行し、有害事象判定と効果判定を行った。有害事象は、National Cancer Institute (NCI)-Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)により評価した。抗腫瘍効果は、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST)ガイドラインの効果判定規準に基づいて判定した。腫瘍マーカーは血清 SCC 抗原値をモニタリングした。Grade3 または 4 の毒性が認められた場合には、IFN- $\alpha$  の投与を中止とした。また、免疫学的モニタリング・治療効果判定のバイオマーカーとして、CTL 活性測定、免疫組織学的検索、遅延型過敏反応(DTH)測定、

HLA-A24/ペプチドテトラマー解析およびメモリーT細胞解析, IFN- $\gamma$  エリスポットアッセイ, 血清サバイピン抗体価の測定を行った。(2) 口腔がんにおける新規がん抗原同定と臨床応用に向けての基礎的研究

当科で樹立した下顎歯肉扁平上皮癌細胞株 POT1 から ALDEFLUOR assay を用いて, アルデヒドデヒドロゲナーゼ 1 (ALDH1) 陽性細胞と陰性細胞を分離した。分離した ALDH1 陽性細胞にがん幹細胞が濃縮されているか否かを検討するために, 浮遊細胞塊形成法, がん幹細胞関連遺伝子の発現の有無, 抗がん薬感受性試験および免疫不全動物における造腫瘍能に関して検討した。さらに, cDNA マイクロアレイ法を用いて ALDH1 陽性細胞で発現している遺伝子の網羅的解析を行った。

次に, 64 歳女性の右頬粘膜がん患者 (中分化型扁平上皮癌, T2N1M0, Stage ) の生検時に原発巣の組織片を一部採取, 培養して口腔扁平上皮癌細胞株を樹立した。同患者の末梢血より peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) を分離し, autologous tumor-CTL pair を作製した。Elispot Assay および LDH Cytotoxicity Detection Kit を用いた Killing Assay にて抗原特異的 CTL 応答を評価した。

#### 4. 研究成果

(1) IFA と IFN- $\alpha$  を併用した SVN-2B ペプチドの第 相臨床試験は 10 例中 7 例 (IFN $\alpha$  高用量群 3 例, PEG-IFN $\alpha$ -2a 高用量群 3 例, PEG-IFN $\alpha$ -2a 低用量群 1 例) が完遂した。臨床効果は SD 3 例, PD 4 例で, 腫瘍マーカー (SCC 抗原値) は 2 例に低下がみられた。ワクチン投与後のテトラマー陽性 CTL 増加は 7 例全例に認められた。DTH 陽性反応は 1 例のみに認められた。現在, 免疫応答増強剤である IFN- $\alpha$  の至適投与量設定のため IFN- $\alpha$  を減量した臨床試験が進行中であるが, 免疫応答の減弱や重篤な有害事象は発生していない。注射部位の発赤, 硬結, 掻痒や発熱を認めたが, いずれも Grade 1 相当で重篤な有害事象は出現しなかった (表 1)。

表 1 SVN-2B ペプチドワクチン療法臨床試験の結果

Patient No.	Age/Sex	Dose of IFN- $\alpha$	the number of times	Adverse events	Prior therapy (wash out time)	Tetramer staining	Tumor marker	Clinical response	Follow up (months)
1	68F	IFN- $\alpha$ 1500000 IU	9	fever, rubor, induration, itching	S+C+R(1M)	↑	NC	PD	4Dc
2	85F	PEG-IFN- $\alpha$ 90 $\mu$ g	10	rubor, induration	S(1M)	↑	nd	SD	24Ac
3	87F	IFN- $\alpha$ 1500000 IU	19	fever, rubor, induration	S(8M)	↑	decreased	SD	6Dc
4	82M	IFN- $\alpha$ 1500000 IU	12	rubor, induration	none	↑	NC	PD	4Dc
5	79M	PEG-IFN- $\alpha$ 90 $\mu$ g	4	rubor, induration	S(2M)	↑	increased	PD	3Dc
7	86M	PEG-IFN- $\alpha$ 90 $\mu$ g	6	rubor, induration	R+S(17M)	↑	decreased	SD	3Do
9	79M	PEG-IFN- $\alpha$ 45 $\mu$ g	4	fever, rubor, induration	S+C+R(5M)	nd	NC	PD	5Ao

(2) がん幹細胞は, 高い造腫瘍能を示す, 自己複製能を有する, 多分化能を有するがん細胞群と定義される。我々は口腔扁平上皮がん幹細胞における高い造腫瘍能の分子

メカニズム解明を進めた。まず, 下顎歯肉扁平上皮癌細胞株から ALDEFLUOR assay によってがん幹細胞 (ALDH1 陽性細胞) を分離した。ALDH1 陽性細胞は, がん幹細胞関連遺伝子を高発現し, 免疫不全動物に高い造腫瘍能を示した。次に, cDNA マイクロアレイ法を用いた網羅的遺伝子解析により ALDH1 陽性細胞に高発現する Small proline-rich protein 1B (SPRR1B) を同定した。SPRR1B 過剰発現がん細胞株では, *in vitro* における細胞増殖能の亢進が観察され, 逆に siRNA にて SPRR1B をノックダウンしたがん細胞株では細胞増殖能の抑制がみられた。SPRR1B 過剰発現およびノックダウン細胞の遺伝子発現をマイクロアレイにてスクリーニングした結果, SPRR1B はがん抑制遺伝子の一つである Ras association domain family member 4 (RASSF4) 発現を抑制することが見出された。がん幹細胞において SPRR1B が過剰発現することにより, RASSF4 発現を抑制し, RAS-MAPK シグナルを亢進することにより, 細胞増殖能が亢進していることが示唆された。これらの成果は治療抵抗性を示す口腔がんの再発や転移の機序を解明し, がん幹細胞抗原を標的分子としたワクチン療法を開発する上で重要な新知見と考えられた。現在, その他のがん幹細胞抗原の候補遺伝子についても探索中である。

autologous tumor-CTL pair の解析では *in vitro* において自家癌特異的 CTL による自家がん細胞に対する特異的細胞障害活性を認めたことから, 新規抗原ペプチドの分離, 同定が可能と考えられた。Limiting Dilution により CTL ラインを抽出し, 細胞傷害活性を測定したところ, 自家がん特異的 HLA-A24 拘束性 CTL が高率に誘導された。CTL の認識する抗原の分離・同定, とくにがん幹細胞抗原の分離・同定により, 再発口腔がんの一因である治療抵抗性獲得メカニズムの解明やがん幹細胞を標的とした免疫療法の臨床応用が具現化するものと考えられる。

#### 引用文献

Hirohashi Y, Torigoe T, et al.: An HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope of a tumor-associated protein, survivin. Clin Cancer Res, 2002, 8: 1731-1739.

Idenoue S, Hirohashi Y, et al.: A potent immunogenic general cancer vaccine that targets survivin, an inhibitor of apoptosis proteins. Clin Cancer Res, 2005, 11: 1474-1482.

Kobayashi J, Hirohashi Y, et al.: Comparative study on the immunogenicity between an HLA-A24-restricted cytotoxic T-cell epitope derived from survivin and that from its splice variant survivin-2B in oral

cancer patients. *J Transl Med*, 2009, 7: 1.

Miyazaki A, Kobayashi J, et al.: Phase I clinical trial of survivin-derived peptide vaccine therapy for patients with advanced or recurrent oral cancer. *Cancer Sci*, 2011, 102: 324-329.

#### 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 7 件)

Kobayashi J, Miyazaki A, Sekiguchi T, Hiratsuka H. Spontaneous complete remission of methotrexate-associated extranodal B-cell lymphoma of the buccal mucosa: Review of the literature and report of a case. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol*, 2015, 27: 677-681. DOI: 10.1016/j.ajoms.2014.11.013 査読有

Sasaki T, Kanaseki T, Shionoya Y, Tokita S, Miyamoto S, Saka E, Kochin Y, Takasawa A, Hirohashi Y, Tamura Y, Miyazaki A, Torigoe T, Hiratsuka H, Sato N. Microenvironmental stresses induce HLA-E/Qa-1 surface expression and thereby reduce CD8+ T-cell recognition of stressed cells. *Eur J Immunol*, 2016, 46: 929-940. DOI: 10.1002/eji.201545835 査読有

平塚博義, 宮崎晃亘, 出張裕也, 荻和弘, 三木善樹, 小林淳一, 上田愛, 五十嵐友彦, 島西真琴, 仲盛健治, 宮川明, 関口隆, 井手隆. 口腔癌の外科治療: 国際共同研究の結果と比較して治療結果を検証する. *札幌医学雑誌*, 2015; 84, 1-6. 査読有

荻和弘, 小林淳一, 竹田康佑, 井手隆, 宮崎晃亘, 平塚博義. 口蓋に発生した多形腺腫由来筋上皮癌の1例. *日口外誌* 2015; 61, 173-176. DOI: doi.org/10.5794/jjoms. 61. 173 査読有

Michifuri Y, Hirohashi Y, Torigoe T, Miyazaki A, Fujino J, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kobayashi J, Sasaki T, Takahashi A, Nakamori K, Yamaguchi A, Hiratsuka H, Sato N. Small proline-rich protein-1B is overexpressed in human oral squamous cell cancer stem-like cells and is related to their growth through activation of MAP kinase signal. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 439: 96-102. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.08.021 査読有

Yamamoto T, Tamura Y, Kobayashi J, Kamiguchi K, Hirohashi Y, Miyazaki A, Torigoe T, Asanuma H, Hiratsuka H, Sato N. Six-transmembrane epithelial antigen of the prostate-1 plays a role for in vivo tumor growth via intercellular communication. *Exp Cell Res*, 2013, 319: 2617-2626. DOI:10.1016/j.yexcr.2013.07.025 査読有

Shmanishi M, Ogi K, Sogabe Y, Kaneko T, Dehari H, Miyazaki A, Hiratsuka H. Silencing of GLUT-1 inhibits sensitization of oral cancer cells to cisplatin during hypoxia. *J Oral Pathol Med*, 2013, 42: 382-388. DOI: 10.1111/jop.12028 査読有

〔学会発表〕(計 22 件)

小林淳一, 他. 口腔癌に対する FDG-PET/CT 検査と臨床病理学的因子との関連についての検討. 第 34 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会. 2016 年 1 月 21 日, 22 日. 横浜市開港記念会館 (神奈川県・横浜市).

Miyazaki A, et al. Outcome of neck dissection in patients with oral squamous cell carcinoma. 22nd International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery. 2015 年 10 月 27-30 日.メルボルン (オーストラリア).

Kobayashi J, et al. A clinical analysis of FDG-PET/CT examination in patients with oral cancer. 22nd International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery. 2015 年 10 月 27-30 日.メルボルン (オーストラリア).

Miyazaki A, et al. Immunotherapeutic benefit of interferon alpha in survivin-2B peptide vaccine for oral cancer patient. The Joint Meeting of 4th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology & 39th Annual Meeting of Japan Society for Head and Neck Cancer. 2015 年 6 月 3-6 日. 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市).

Kobayashi J, et al. A clinical analysis of FDG-PET/CT on patients with oral cancer. The Joint Meeting of 4th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology & 39th Annual Meeting of Japan Society for Head and Neck Cancer. 2015 年 6 月 3-6 日. 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市).

小林淳一, 他. 口腔癌頸部リンパ節転移診断における FDG-PET/CT の臨床的検討. 第 33 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会. 2015 年 1 月 29, 30 日. 奈良県新公会堂 (奈良県・奈良市).

小林淳一, 他. FDG-PET/CT を用いた口腔癌頸部リンパ節転移の評価に関する検討. 第 59 回日本口腔外科学会総会・学術大会. 2014 年 10 月 17-19 日. 幕張メッセ (千葉県・千葉市).

Miyazaki A, et al. Immunotherapeutic benefit of  $\alpha$ -interferon in survivin-2B-derived peptide vaccination for patients with oral cancer. 第 73 回日本癌学会学術総会. 2014 年 9 月 25-27 日. パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市).

宮崎晃亘, 他. 口腔がんに対するサバイビン 2B ペプチドワクチン・インターフェロン併用療法の臨床試験. 第 52 回日本癌治療学会学術集会. 2014 年 8 月 28-30 日. パシフィ

コ横浜（神奈川県横浜市）。

小林淳一, 他. Stage III, IV 舌扁平上皮癌の治療成績の検討. 第 38 回日本頭頸部癌学会. 2014 年 6 月 12, 13 日. 東京ファッションタウンビル（東京都・江東区）。

宮崎晃亘, 他. 進行・再発口腔がんに対するアジュバント併用 survivin-2B ペプチドワクチン療法（優秀ポスター賞受賞）. 第 32 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会. 2014 年 1 月 23 日, 24 日. 札幌コンベンションセンター（北海道・札幌市）。

小林淳一, 他. 類粘膜に生じたメトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の 1 例. 第 32 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会. 2014 年 1 月 23 日, 24 日. 札幌コンベンションセンター（北海道・札幌市）。

佐々木敬則, 他. 微小環境ストレス下の腫瘍細胞に対する CD8+T 細胞応答は低下する. 第 32 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会. 2014 年 1 月 23 日, 24 日. 札幌コンベンションセンター（北海道・札幌市）。

Miyazaki A, et al. Survivin-derived peptide vaccine therapy for patients with oral cancer. 21st International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery. 2013 年 10 月 21-24 日. バルセロナ（スペイン）。

Kobayashi J, et al. A study of selective intra-arterial infusion chemotherapy and concomitant radiotherapy on patients with oral cancer. 21st International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery. 2013 年 10 月 21-24 日. バルセロナ（スペイン）。

佐々木敬則, 他. 微小環境ストレスによる MHC クラス I 抗原プロセッシングと CD8+T 細胞応答の変化. 第 58 回日本口腔外科学会総会・学術大会. 2013 年 10 月 11-13 日. 福岡国際会議場（福岡県・福岡市）。

小林淳一, 他. 口腔癌に対する CDDP を用いた放射線併用選択的動注化学療法の検討. 第 58 回日本口腔外科学会総会・学術大会. 2013 年 10 月 11-13 日. 福岡国際会議場（福岡県・福岡市）。

Sasaki T, et al. Tumor cells exposed to microenvironmental stresses express non-classical MHC class Ib that attenuates CD8+ T cell responses. 第 72 回日本癌学会学術総会. 2013 年 10 月 3-5 日. パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）。

佐々木敬則, 他. 細胞ストレスによる MHC クラス I 抗原プロセッシングと CD8+T 細胞応答の変化. 第 102 回日本病理学会総会. 2013 年 6 月 6-8 日. ロイトン札幌・さっぽろ芸文館（北海道・札幌市）。

宮崎晃亘, 他. 進行・再発口腔がんに対するアジュバント併用 survivin-2B ペプチドワクチン療法. 第 37 回日本頭頸部癌学会. 2013 年 6 月 13, 14 日. 京王プラザホテル（東京都・新宿区）。

④小林淳一, 他. 口腔癌に対する CDDP を用いた放射線併用選択的動注化学療法の検討.

第 37 回日本頭頸部癌学会. 2013 年 6 月 13, 14 日. 京王プラザホテル（東京都・新宿区）。

②佐々木敬則, 他. 微小環境ストレスにより腫瘍細胞は非古典的 MHC class Ib 分子を発現増強し CD8+T 細胞を介した免疫応答を低下させる. 第 51 回日本口腔科学会北日本地方会. 2013 年 6 月 28, 29 日. いわて県民情報交流センター（岩手県・盛岡市）。

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮崎晃亘 (MIYAZAKI Akihiro)  
札幌医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：10305237

### (2) 研究分担者

小林淳一 (KOBAYASHI Jun-ichi)  
札幌医科大学・医学部・助教  
研究者番号：80404739

佐々木敬則 (SASAKI Takanori)  
札幌医科大学・医学部・助教  
研究者番号：50548732

藤野準己 (FUJINO Junki)  
札幌医科大学・医学部・研究員  
研究者番号：60620945

道振義貴 (MICHIFURI Yoshitaka)  
札幌医科大学・医学部・研究員  
研究者番号：00457722

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：