

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462265

研究課題名(和文)肉腫幹細胞に対する炭酸ガス経皮投与を用いた新規治療の開拓

研究課題名(英文)Antitumor effects of transcutaneous carbon dioxide therapy on stemness in bone and soft tissue sarcomas

研究代表者

河本 旭哉 (KAWAMOTO, Teruya)

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：30420558

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：骨軟部肉腫に対するより強力な新規治療法の確立のための基礎的研究として、腫瘍悪性化・増生の根幹となる未分化能(肉腫幹細胞)と関連する因子としてミトコンドリア機能に着目し、我々が開発した炭酸ガス経皮投与による低酸素環境改善の有効性について検討した。

骨軟部肉腫において未分化能の指標であるiPS関連因子の発現が高いこと、ミトコンドリア機能が低下していることが確認され、いずれも低酸素環境によってより増強することを明らかにした。さらに炭酸ガス経皮投与による低酸素環境の改善によって未分化能の低下、ミトコンドリア機能の改善を生じることが確認され、骨軟部肉腫に対する新規治療法となり得ることが期待された。

研究成果の概要(英文)：To establish a novel therapeutic strategy for bone and soft tissue sarcomas, we hypothesized that "Pluripotency" and "Mitochondrial dysfunction" would be the main cause of sarcoma progression, and evaluated antitumor effects of hypoxia improvements by the transcutaneous carbon dioxide (CO₂) therapy on sarcomas. We revealed that iPS-related gene expression and mitochondrial dysfunction were associated with sarcoma progression, and that both of them were activated by hypoxic condition. In addition, transcutaneous CO₂ therapy showed strong antitumor effects on sarcoma cells by decreased iPS-related gene expression and increased mitochondrial activity. The findings in this study strongly suggest that "Pluripotency" and "Mitochondrial dysfunction" should be the key of sarcoma progression, and that transcutaneous CO₂ therapy can be an innovative therapeutic tool for sarcomas.

研究分野：骨軟部腫瘍

キーワード：骨軟部肉腫 未分化能 幹細胞 ミトコンドリア機能 炭酸ガス経皮投与 腫瘍内低酸素環境

1. 研究開始当初の背景

骨軟部肉腫は骨軟部に発生する悪性腫瘍である。手術・化学療法・放射線治療を合わせた集学的治療が行なわれるが、確立された治療法はまだまだ存在せず、治療に難渋することも多い。補助療法である化学療法、放射線治療による治療効果は非常に乏しいものであり、切除不能の進行例や再発、遠隔転移例においては予後不良となることも稀ではない。手術侵襲の縮小化や再発、転移を予防する観点から有効かつ副作用の少ない補助療法の確立が必要不可欠であるが、骨軟部肉腫の悪性化に寄与すると考えられる要因についての解析はいまだ発展途上である。

近年の幹細胞研究の進歩に伴い、癌組織においても『癌幹細胞(Cancer stem cell)』と呼ばれる未分化な細胞が存在し、癌組織における急速な再発や転移、治療抵抗性など、その悪性化に重要であることが明らかとなってきた。骨軟部肉腫においても、癌幹細胞と同様に『肉腫幹細胞(Sarcoma stem cell)』が存在し、腫瘍悪性化への関与を示唆する報告がなされつつある。癌あるいは肉腫幹細胞の性質(Stemness)を解析することで、再発や転移の予防、治療に対する反応性の向上など、癌あるいは肉腫の制御を考える上できわめて重要であることは言うまでもない。

化学療法あるいは放射線治療の有効性を妨げる因子として腫瘍内の低酸素環境が重要であり、低酸素環境下においては腫瘍細胞の悪性度が増強することが知られている。これまで低酸素環境の改善を目的とした様々な研究がなされてきたが、いまだ有用な方法は報告されていない。我々は酒井らが報告した、『炭酸ガス経皮投与が生体内投与局所において副作用なく酸素分圧上昇を起こすこと』に着目し、炭酸ガス経皮投与が骨軟部肉腫においても低酸素環境を改善し、抗腫瘍効果をもたらすと仮説をたて、代表的な骨軟部肉腫である未分化多形肉腫/悪性線維性組織球腫(Undifferentiated Pleomorphic Sarcoma; UPS / Malignant Fibrous Histiocytoma; MFH)や骨肉腫細胞株を用いて様々な検討を行った。ラット筋肉への効果を検討した過去の報告と同様の方法で、骨軟部肉腫細胞株を移植した免疫不全マウスへ炭酸ガス経皮投与を行ったところ、UPS/MFH皮下移植モデルでは、移植腫瘍内でアポトーシスが亢進し、腫瘍増大が抑制されること、腫瘍内低酸素環境が改善し、化学療法感受性が増強することが明らかとなった。また高肺転移骨肉腫細胞株を用いた検討では、移植腫瘍の腫瘍増大抑制のみならず、肺転移抑制効果が得られ、炭酸ガス経皮投与が骨軟部肉腫に対する補助療法として革新的な治療法になりうると考えている。

低酸素環境はすでに癌幹細胞との関連性についての報告があり、また現在注目されているiPS細胞においても低酸素環境がその誘導効率にとって有利である、と言われている。

これらのことから、低酸素環境があらゆる細胞のstemnessにとって重要であることは明らかであり、炭酸ガス経皮投与による低酸素環境の改善が骨軟部肉腫の腫瘍そのものだけでなく、肉腫幹細胞に対しても有効であると確信し、本研究を計画するに至った。

2. 研究の目的

骨軟部肉腫は化学療法および放射線治療に対して抵抗性を示し、手術以外に有効な治療法が存在せず、今日においても治療に難渋することが多い。近年癌幹細胞(Cancer stem cell)の存在が多くの癌腫において報告され、骨軟部肉腫においても治療抵抗性に寄与していることが示唆されている。我々はこれまでに炭酸ガス経皮投与が骨軟部肉腫に対して投与局所の酸素分圧の上昇および腫瘍内アポトーシスの亢進を来し、抗腫瘍効果を示すことを明らかにしてきた。本研究の目的は、骨軟部肉腫においてその悪性度に寄与していると考えられる肉腫幹細胞(Sarcoma stem cell)に対する炭酸ガス経皮投与の有用性を検討することである。

3. 研究の方法

本研究では、まず肉腫(癌腫)において文献的に幹細胞因子として報告されている種々のマーカーを用いて、ヒトUPS/MFH細胞株から肉腫幹細胞の分離・培養を行い、*in vitro*で細胞増殖能、浸潤・転移能、化学療法抵抗性などを検討し、次いで、分離・培養した肉腫幹細胞を免疫不全マウスに移植して作成した肉腫幹細胞モデルマウスを用い、*in vivo*において腫瘍形成能を評価し、炭酸ガス経皮投与が移植腫瘍に与える効果を検討することで、炭酸ガス経皮投与による肉腫幹細胞への治療効果について解析・評価する予定であった。しかし、分離した細胞のマウスへの生着状態が悪く、本研究期間中に当初計画していた肉腫幹細胞モデルマウスの作成に至らなかった。そこで、細胞の未分化能を評価する指標として骨軟部肉腫細胞株におけるiPS関連因子(Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf-4, Nanog)、抗アポトーシス因子survivinの発現検討と骨軟部肉腫細胞株皮下移植モデルマウスへの炭酸ガス経皮投与による上記因子の発現変化について検討した。また骨軟部肉腫細胞の未分化能、抗アポトーシスに大きく寄与しているミトコンドリア機能低下にも着目し、これを改善することで抗腫瘍効果が得られるかに関しても*in vitro*、*in vivo*にて評価した。

(1) ヒトUPS/MFH細胞株からの肉腫幹細胞の分離・培養と*in vitro*における肉腫幹細胞の性質・悪性度の評価。

当研究室において以前より骨軟部肉腫領域の研究に多く用いてきたヒトUPS/MFH由来細胞株2種(TNMY1およびNara-H)を使用した。CD24, CD29, CD34, CD44, CD133, ALDH1を幹細胞マーカーとして、発現陽性

および陰性細胞の sorting を行い、各マーカーの陽性、陰性細胞群を個別に培養し、各細胞群の細胞増殖能について WST-8 assay 法による評価を行った。

(2) 骨軟部肉腫細胞における iPS 関連因子発現と皮下移植モデルマウスに対する炭酸ガス経皮投与が同因子発現に与える影響。

骨および軟部肉腫由来細胞株における iPS 関連因子(Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf-4, Nanog)の発現について real time PCR 法にて評価した。また同因子の発現変化について、様々な酸素濃度環境培養下でも評価し、低酸素環境と iPS 関連因子の関係性について検討した。次に同細胞株を免疫不全マウス背部皮下に移植してモデルマウスを作成、炭酸ガス経皮投与を行った後に移植腫瘍を採取し、移植腫瘍内の iPS 関連因子の発現変化についても評価した。

(3) 骨軟部肉腫細胞における抗アポトーシス因子 survivin の発現とその抑制による抗腫瘍効果の検討。

我々は以前に骨軟部肉腫においてミトコンドリア機能が低下しており、その機能低下が腫瘍増生に関与していることを報告してきた。ミトコンドリア系アポトーシスの抵抗性に寄与する因子として IAP ファミリーである survivin が知られている。本検討では、survivin が骨軟部肉腫の未分化能に寄与していると仮設し、その発現の有無と survivin 機能を阻害する薬剤 YM155 による抗腫瘍効果について in vitro および in vivo で評価した。

(4) 骨軟部肉腫細胞に対するミトコンドリア機能増強による抗腫瘍効果の検討。

ミトコンドリア機能低下を改善する薬剤として、AICAR が知られており、同薬剤がある種の癌細胞株に抗腫瘍効果を示すことが報告されている。そこで、AICAR の骨軟部肉腫に対する効果として、AMPK 活性化を介したミトコンドリア機能亢進に着目し、in vitro および in vivo にて骨軟部肉腫細胞への効果を評価した。

(5) 骨軟部肉腫細胞に対する Smac 模倣薬を用いたミトコンドリア系アポトーシス亢進による抗腫瘍効果の検討。

ミトコンドリア系アポトーシスを阻害する因子として IAP ファミリーの存在が知られている。IAP ファミリーの活性化を阻害する因子として Smac があり、化学療法剤など外的なアポトーシス実行指令によってミトコンドリアから放出されることが知られており、その模倣薬が抗腫瘍効果を示すことが報告されている。そこで、骨軟部肉腫に対する効果として Smac 模倣薬である AT-406 を用い、ミトコンドリア系アポトーシス活性に着目して in vitro および in vivo で評価した。

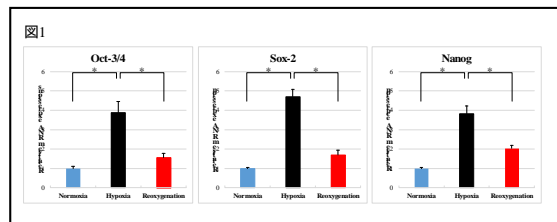
4. 研究成果

(1) ヒト UPS/MFH 細胞株からの肉腫幹細胞の分離・培養と in vitro における肉腫幹細胞の性質・悪性度の評価。

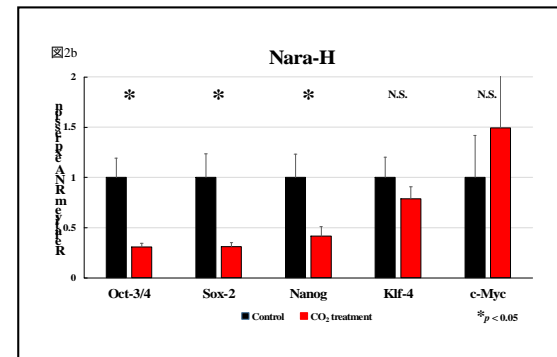
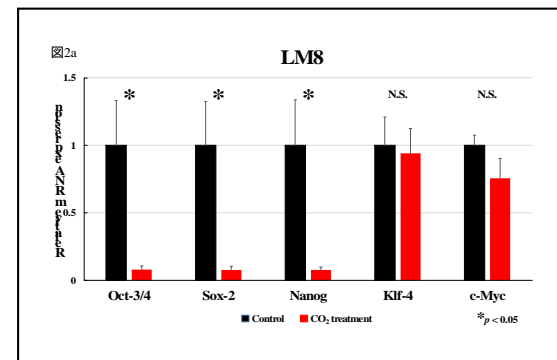
2 種のヒト UPS/MFH 由来細胞株(TNMY1 および Nara-H)を用いて、CD24、CD29、CD34、CD44、CD133、ALDH1 を幹細胞マーカーとした発現陽性、陰性細胞の sorting を行ったところ、両細胞株とも CD44 発現陽性細胞においては in vitro の細胞増殖能が高い傾向をみとめた。しかし、発現陽性細胞の免疫不全マウスへの移植生着状態が悪く、肉腫幹細胞モデルマウス作成に至らなかった。

(2) 骨軟部肉腫細胞における iPS 関連因子発現と皮下移植モデルマウスに対する炭酸ガス経皮投与が同因子発現に与える影響。

マウス高肺転移性骨肉腫細胞株 LM8 およびヒト UPS/MFH 細胞株 Nara-H を様々な酸素濃度条件下で培養し、iPS 関連因子(Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf-4, Nanog)の発現を検討したところ、低酸素環境において Oct3/4, Sox2, Nanog の発現が有意に増強することが明らかとなった(図 1)。



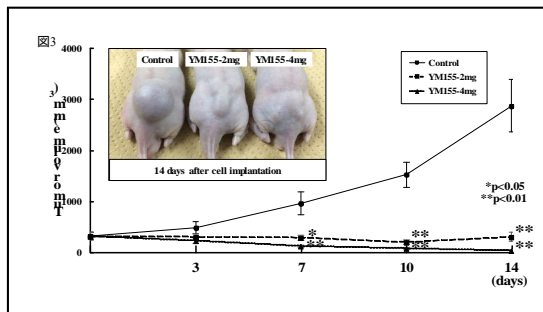
同細胞株を背部皮下に移植したモデルマウスに対して、炭酸ガス経皮投与を行ったところ、投与後腫瘍内の Oct3/4, Sox2, Nanog の発現が有意に低下していた(図 2a, b)。



本検討から、骨軟部肉腫の増生に関し、未分化能の指標である iPS 関連因子の高発現が関与し、低酸素環境においてより増強することが明らかとなった。さらに炭酸ガス経皮投与による腫瘍内低酸素環境の改善が同因子の発現を低下させ、抗腫瘍効果を示す可能性が示唆された。

(3) 骨軟部肉腫細胞における抗アポトーシス因子 survivin の発現とその抑制による抗腫瘍効果の検討。

骨軟部腫瘍および正常筋組織における survivin の発現を検討したところ、代表的な骨軟部肉腫である骨肉腫および UPS/MFH の腫瘍組織において、良性腫瘍である神経鞘腫や正常筋組織よりも有意な高発現をみとめた。Survivin 阻害剤 YM155 による抗腫瘍効果についてヒト UPS/MFH 細胞株を用いて、in vitro および in vivo で検討したところ、in vitro において caspase-3, -9, PARP の活性化によるアポトーシス誘導効果を、in vivo において腫瘍増大抑制効果をもとめた(図 3)。

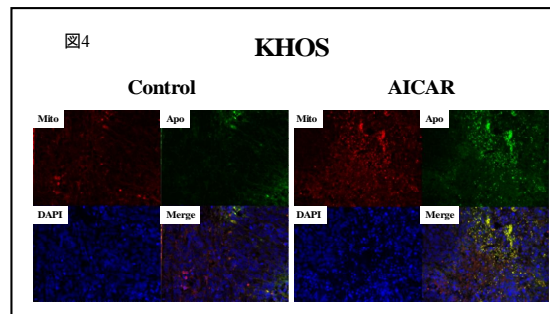


また炭酸ガス経皮投与後腫瘍において、先に示した iPS 関連因子と同様に survivin 発現の低下もみとめられ、低酸素環境と survivin 発現にも関与がある可能性が示唆された。

本検討から、骨軟部肉腫の増生に関して、ミトコンドリア系アポトーシスを阻害し、未分化能にも関与する survivin が骨軟部肉腫においてその増生に関与しており、これを標的とする治療の可能性が示唆された。

(4) 骨軟部肉腫細胞に対するミトコンドリア機能増強による抗腫瘍効果の検討。

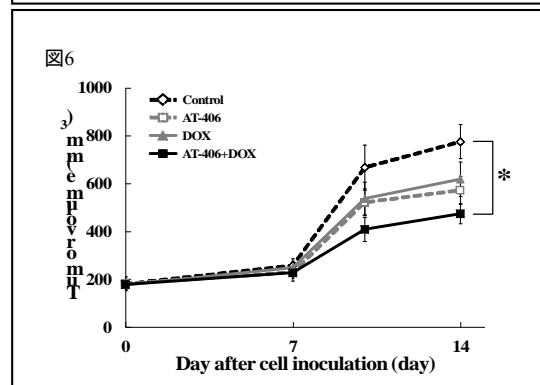
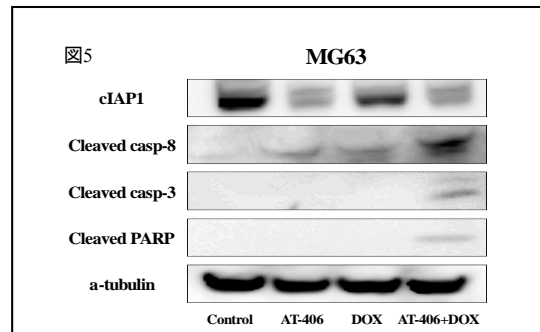
骨軟部肉腫においてミトコンドリア機能低下が悪性化、腫瘍増生に関与しており、これを改善することで抗腫瘍効果が得られる可能性がある。ミトコンドリア活性において AMPK/PGC-1 α /TFAM 経路が重要であることから、AMPK の活性化剤である AICAR を用いて、骨軟部肉腫細胞への効果を検討した。骨肉腫細胞株(MG63, KHOS)に対する AICAR の効果を検討した。AICAR が PGC-1 α /TFAM 経路を介してミトコンドリア量を増加させることが示され、in vitro, in vivo ともにミトコンドリア系アポトーシスが誘導されることが明らかとなった(図 4)。本検討から、骨軟部肉腫においてミトコンドリア機能の改善によって抗腫瘍効果が得られる可能性が示された。



(5) 骨軟部肉腫細胞に対する Smac 模倣薬を用いたミトコンドリア系アポトーシス亢進による抗腫瘍効果の検討。

ミトコンドリア系アポトーシス阻害因子 IAP ファミリーの 1 つ cIAP-1 の機能を阻害する Smac は、化学療法剤など外的なアポトーシス実行指令によってミトコンドリアから放出される。ミトコンドリア機能低下が起きている骨軟部肉腫においては Smac が相対的に不足し、抗アポトーシス、腫瘍増生に傾いていると仮定し、Smac 模倣薬の抗腫瘍薬 Doxorubicin との併用効果を検討した。

Smac 模倣薬 AT-406 は骨肉腫細胞株(MG63, KHOS)に対して in vitro, in vivo において cIAP-1 発現低下と Doxorubicin 併用による抗腫瘍効果の増強をみとめた(図 5, 6)。



本研究は、骨軟部肉腫の腫瘍増生に寄与していると考えられる肉腫幹細胞を分離・培養し、同モデルマウスを作成することで、骨軟部肉腫の腫瘍増生メカニズム、新規治療標的の開発を目的として行った。当初予定していた肉腫幹細胞の分離、モデルマウス作成には至らなかったが、肉腫幹細胞の未分化能を反映する iPS 関連因子やミトコンドリア機能低下、抗アポトーシス因子が骨軟部肉腫の腫瘍増生に関与しており、腫瘍内低酸素状態との

関連性について明らかとし、それらを標的とした治療が有用であることを示すことが出来た。低酸素環境を改善する方法として我々が開発した炭酸ガス経皮投与が有用であることも明らかとなり、新規治療法開拓において発展途上である骨軟部肉腫領域において革新的な治療法になる可能性を示した。

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4件)

1. Takeda D, Hasegawa T, Ueha T, Imai Y, Sakakibara A, Minoda M, Kawamoto T, Minamikawa T, Shibuya Y, Akisue T, Sakai Y, Kurosaka M, Komori T. Transcutaneous carbon dioxide induces mitochondrial apoptosis and suppresses metastasis of oral squamous cell carcinoma in vivo. PLoS One. 2014 Jul 2;9(7):e100530.

2. Minoda M, Kawamoto T, Ueha T, Kamata E, Morishita M, Harada R, Toda M, Onishi Y, Hara H, Kurosaka M, Akisue T. Antitumor effect of YM155, a novel small-molecule survivin suppressant, via mitochondrial apoptosis in human MFH/UPS. Int J Oncol. 2015 Sep;47(3):891-9.

3. Iwata E, Hasegawa T, Takeda D, Ueha T, Kawamoto T, Akisue T, Sakai Y, Komori T. Transcutaneous carbon dioxide suppresses epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol. 2016 Apr;48(4):1493-8.

4. Morishita M, Kawamoto T, Hara H, Onishi Y, Ueha T, Minoda M, Katayama E, Takemori T, Fukase N, Kurosaka M, Kuroda R, Akisue T. AICAR induces mitochondrial apoptosis in human osteosarcoma cells through an AMPK-dependent pathway. Int J Oncol. 2017 Jan;50(1):23-30.

[学会発表](計26件)

1. 原田理沙. 炭酸ガス経皮投与は骨・軟部肉腫における iPS 関連遺伝子の発現を低下させる. 第 87 回日本整形外科学会学術総会, 2014.5.22-25, 神戸国際展示場(兵庫県・神戸市)

2. 原田理沙. 炭酸ガス経皮投与は骨・軟部肉腫における iPS 関連遺伝子の発現を低下させる. 第 51 回日本リハビリテーション医学会学術総会, 2014.6.5-7, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

3. 蓑田正也. Survivin 抑制薬 YM155 はヒト MFH 細胞の腫瘍増殖能を抑制する. 第 47 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会,

2014.7.17-18, 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

4. 原田理沙. 炭酸ガス経皮投与による低酸素環境の改善は悪性線維性組織球腫の iPS 関連遺伝子の発現を低下させる. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2014.10.21-22, 城山観光ホテル(鹿児島県・鹿児島市)

5. 蓑田正也. 骨軟部悪性腫瘍に対する Survivin 抑制薬“YM155”の検討. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2014.10.21-22, 城山観光ホテル(鹿児島県・鹿児島市)

6. 森下雅之. AICAR の骨肉腫細胞に対するアポトーシス誘導効果. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2014.10.21-22, 城山観光ホテル(鹿児島県・鹿児島市)

7. Minoda M. YM155, A Novel Small Molecule Survivin Suppressant, Reduces Tumor Progression of Human Musculoskeletal Malignancies. The 61st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS), 2015.3.24-28, Las Vegas (USA)

8. Morishita M. AICAR Induces Apoptosis in Human Osteosarcoma Cells through AMPK-dependent PGC-1 α /TFAM/Mitochondrial Pathway. The 61st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS), 2015.3.24-28, Las Vegas, (USA)

9. 蓑田正也. Survivin 抑制薬 YM155 はヒト MFH 細胞の腫瘍増殖を抑制する. 第 48 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会, 2015.7.9-10, かがわ国際会議場(香川県・高松市)

10. 蒲田悦子. 骨肉腫細胞に対する SMAC 模倣薬とドキソルピシンの併用効果. 第 48 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会, 2015.7.9-10, かがわ国際会議場(香川県・高松市)

11. 森下雅之. AICAR の骨肉腫細胞に対するアポトーシス誘導効果. 第 48 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会, 2015.7.9-10, かがわ国際会議場(香川県・高松市)

12. 森下雅之. AICAR の骨肉腫細胞に対するアポトーシス誘導効果. 第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2015.10.22-23, 富山国際会議場(富山県・富山市)

13. 蒲田悦子. 骨肉腫細胞に対する SMAC 模倣薬とドキソルピシンの併用効果. 第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2015.10.22-23, 富山国際会議場(富山県・富山市)

14. Morishita M. Apoptotic Effect of AICAR on Osteosarcoma Cell Lines. 2015 Connective Tissue Oncology Society (CTOS), 2015.11.4-7,

Salt Lake City (USA)

15. Minoda M. Survivin inhibition induces mitochondrial apoptosis in human MFH cells. 2015 Connective Tissue Oncology Society (CTOS), 2015.11.4-7, Salt Lake City (USA)

16. Morishita M. AICAR Induces Mitochondrial Apoptosis In Human Osteosarcoma Cells through AMPK-dependent PGC-1alpha/TFAM/ Mitochondrial Pathway. The 62nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS), 2016.3.5-8, Orlando (USA)

17. Kamata E. Combination Therapy Of Smac Mimetic And Doxorubicin On Osteosarcoma Cells. The 62nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS), 2016.3.5-8, Orlando (USA)

18. 森下雅之. AICAR の骨肉腫細胞に対するアポトーシス誘導効果. 第 49 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会, 2016.7.14-15, 東京ドームホテル (東京都)

19. 蒲田悦子. 骨肉腫細胞に対する SMAC 模倣薬とドキシソルピシンの併用効果. 第 49 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会, 2016.7.14-15, 東京ドームホテル (東京都)

20. 竹森俊幸. 低酸素環境改善は乳癌細胞において破骨細胞誘導因子と溶骨性因子の発現を低下させる. 第 49 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会, 2016.7.14-15, 東京ドームホテル (東京都)

21. 森下雅之. AICAR の骨肉腫細胞に対するアポトーシス誘導効果. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2016.10.13-14, 福岡国際会議場 (福岡県・福岡市)

22. 蒲田悦子. 骨肉腫細胞に対する SMAC 模倣薬とドキシソルピシンの併用効果. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2016.10.13-14, 福岡国際会議場 (福岡県・福岡市)

23. 竹森俊幸. 骨転移部位の低酸素環境の改善は乳癌骨転移による骨破壊を抑制する. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2016.10.13-14, 福岡国際会議場 (福岡県・福岡市)

24. Kawamoto T. Targeting mitochondrial function using transcutaneous CO2 application for the sarcoma treatment. The 63rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS), 2017.3.19-22, San Diego (USA)

25. Fukase N. Antitumor effects by combined therapy of Smac mimetic and doxorubicin on human osteosarcoma cells. The 63rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society

(ORS), 2017.3.19-22, San Diego (USA)

26. Takemori T. The improvement of hypoxia blocks the progressive bone destruction in a metastatic bone tumor model. The 63rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS), 2017.3.19-22, San Diego (USA)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kobe-seikei.com/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

河本 旭哉 (KAWAMOTO, Teruya)
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 3 0 4 2 0 5 5 8

(2)研究分担者

原 仁美 (HARA, Hitomi)
神戸大学・医学部附属病院・特命助教
研究者番号: 4 0 4 3 7 4 8 9

秋末 敏宏 (AKISUE, Toshihiro)
神戸大学・保健学研究科・教授
研究者番号: 9 0 3 7 9 3 6 3

大西 康央 (ONISHI, Yasuo)
神戸大学・医学部附属病院・医員
研究者番号: 5 0 7 0 7 1 2 2
(平成 26 年度まで研究分担者)

(3)連携研究者

(4)研究協力者

深瀬 直政 (FUKASE, Naomasa)
蓑田 正也 (MINODA, Masaya)
森下 雅之 (MORISHITA, Masayuki)
原田 理沙 (HARADA, Risa)
竹森 俊幸 (TAKEMORI, Toshiyuki)
蒲田 悦子 (KAMATA, Etsuko)