

令和元年6月20日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H02362

研究課題名(和文)大腸がん自然転移・再発モデルの開発による悪性化進展機構の研究

研究課題名(英文) Analysis on colon cancer malignant progression using novel mouse models

研究代表者

大島 正伸 (Oshima, Masanobu)

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：40324610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 24,900,000円

研究成果の概要(和文)：大腸がん悪性化に関与するドライバー遺伝子の中から異なるパスウェイの制御に関わる5種類(Apc, Kras, Tgfbr2, Trp53, Fbxw7)に着目し、異なる組み合わせで変異を持つマウスモデルを交配により作製して解析した。その結果、Wnt活性化により発生した腸管腫瘍細胞は、TGF-beta経路の遮断または変異p53の発現により粘膜下浸潤し、さらにKrasの活性化変異の蓄積によりEMT様の形態変化と脈管内浸潤が誘導されることを明らかにした。これらの3重遺伝子変異を持つ腫瘍由来オルガノイドは転移能を獲得しており、誘導遺伝子群の中から転移に対する治療標的分子を特定することが期待された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

複数の遺伝子変異の積み重ねが大腸がんを発生させるという、「多段階発がん」の概念が確立されているが、それぞれの遺伝子変異の組み合わせにより、がん細胞がどのような悪性化形質を獲得するのかは、未だ不明な点が多く全体像は明らかになっていない。本研究では、ゲノム解析で明らかにされたドライバー遺伝子変異の情報に基づいて、マウスモデルを用いた網羅的解析を実施することで、大腸がん細胞の粘膜下浸潤、血管やリンパ管浸潤、遠隔転移などの各悪性化段階に、どのようなドライバー遺伝子変異の組み合わせが関与するのかを初めて明らかにした。得られた知見は、将来の大腸がん転移を標的とした治療薬開発に貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：We have selected five colon cancer driver genes, Apc, Kras, Tgfbr2, Trp53 and Fbxw7, which regulate distinct oncogenic or tumor-suppressor pathways, and generated compound mutant mice by intensive crossing. Phenotype analyses of the mice revealed that suppression of TGF-beta signaling or mutant p53 expression in addition to Wnt activation causes submucosal invasion. Moreover, we found that additional Kras activation mutation induces morphological changes to EMT-like structure and intravasation. These triple mutant tumor-derived organoids acquired metastatic ability from spleen to the liver. Taken together, the results suggest that Apc, Kras, Tgfbr2 or Apc, Kras, Trp53 is a minimum core for efficient colon cancer metastasis.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：大腸がん マウスモデル 悪性化進展 オルガノイド 転移

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸がんの発生および悪性化には、複数のがん遺伝子およびがん抑制遺伝子の変異が段階的に蓄積することが原因と考えられ、「多段階発がん説」としてその概念が確立している。また、大規模なゲノム解析により、大腸がん発生に關与するドライバー遺伝子が明らかにされ、それらの変異による、Wnt シグナル活性化、TGF-βシグナル抑制、Kras 活性化、p53 機能欠損などが腸管粘膜上皮細胞の腫瘍化、そして悪性化を誘導すると考えられていた。一方で、遺伝子変異の蓄積が、大腸がん悪性化の粗過程、すなわち粘膜下浸潤、血管・リンパ管内浸潤、遠隔転移にどのように關与するのかについて、個体レベルでの研究が行われておらず、遺伝子変異型と悪性化等の表現型との相関は明らかにされていなかった。転移再発をともなう悪性化進展がんを罹患する患者の生存率は低く、転移を対象とした抗がん剤の開発もなされていない。そのためにも、遺伝子変異の蓄積による大腸がん悪性化機構の解明は重要な研究課題である。

2. 研究の目的

本研究は、大腸がん発生と悪性化に關与するドライバー遺伝子として、*Apc*、*Kras*、*Tgfr2*、*Trp53*、*Fbxw7* の 5 遺伝子に着目し、これらの遺伝子変異マウスの交配により、様々な遺伝子変異の組み合わせを腸管上皮細胞に導入したマウスモデルを作製し、これらを用いた解析により、腸管腫瘍の悪性化誘導機構を個体レベルの解析で明らかにすることを目的とした。これらの遺伝子変異は、それぞれ Wnt シグナル活性化、Kras 活性化、TGF-βシグナル抑制、変異型 p53 発現、*Fbxw7* によるがん遺伝子不活化の抑制などを誘導して発がんに關与すると考えられる。研究では、特に転移を誘導する遺伝子変異の組み合わせを明らかにし、それにより発現変化する遺伝子群を特定することで、将来の転移を標的とした治療薬開発に重要な知見を提供する。

3. 研究の方法

(1) マウスモデル作製

Apc^{Δ716} マウス、*Kras*^{LSL-G12D/+} マウス、*Tgfr2*^{fllox/fllox} マウス、*Trp53*^{LSL-R270H/+} マウス、*Fbxw7*^{fllox/fllox} マウス、*villin-CreER* マウスの 6 種類のマウスを交配して複合変異マウスを作製した。*Apc*^{Δ716} マウスは良性の腸管ポリープを発生するため、全てのマウスでは *Apc* 遺伝子変異に加えて他の遺伝子変異を導入した。*villin-CreER* は、タモキシフェン投与により腸管上皮細胞にて Cre が核移行し、コンディショナル変異マウスの floxed 領域の DNA を切り出す。それにより、*Kras*^{LSL-G12D/+} マウスと *Trp53*^{LSL-R270H/+} マウスでは、それぞれ変異型の *Kras*^{G12D} や *Trp53*^{R270H} の発現が誘導され、*Tgfr2*^{fllox/fllox} マウスと *Fbxw7*^{fllox/fllox} マウスでは、*Tgfr2* および *Fbxw7* 遺伝子を欠損する。それぞれのドライバー変異を A、K、T、P、F のアルファベット 1 文字で示し、A、AK、AT、AP、AKP、AKF、AKT、ATP、AKTP、AKTPF などの 14 種類の複合変異マウスを作製した (図 1)。

(2) 表現型の病理組織解析

各マウスモデルの腸管に発生する腫瘍組織を病理組織学的に解析した。とくに、粘膜下浸潤、また、Ki67 や αSMA に対する抗体を用いた免疫染色により細胞分裂と間質細胞の活性化を評価し、血管やリンパ管内皮細胞の免疫染色により、脈管浸潤の有無を解析した。さらに、F4/80、CD3ε、CD4、CD8、CD45R などの抗体を用いて、マクロファージ、CD4/CD8 陽性 T 細胞、および B 細胞の浸潤の検出を行い、免疫学的性状を解析した。

(3) オルガノイド培養および移植による転移実験

各マウスモデルに発生した腸管腫瘍細胞を採取し、マトリゲル中で 3 次元培養した。顕微鏡下でオルガノイド形成を確認した後、オルガノイドを免疫不全マウスおよび同系統の C57BL/6 (B6) マウス脾臓にマトリゲルと共に移植した。移植後 2~4 週間で病理解剖し、肝転移の有無について組織学的に解析した。また、悪性化の分子機構を明らかにするため、オルガノイドの遺伝子発現を RNA シークエンスにより解析し、Ingenuity Pathway Analysis (IPA) および主成分解析を行った。

4. 研究成果

(1) 変異型 p53 発現および TGF-βシグナル遮断による粘膜下浸潤

作製した全ての遺伝子型マウスの腸管腫瘍に対して組織病理解析を実施した結果、AP および AT を含む遺伝子型マウスで粘膜下浸潤が認められたため、TGF-βシグナル遮断または変異型 p53 R270H 発現が、腫瘍細胞の粘膜下浸潤を誘導することが明らかとなった (図 1 A)。

ヒトがん組織の大半では、p53 遺伝子の変異は欠損ではなく特定のアミノ酸変化をともなうミスセンス型変異である。これまでの研究により、変異した p53 が新たに発がん促進機能を獲得することが示されており、機能獲得型

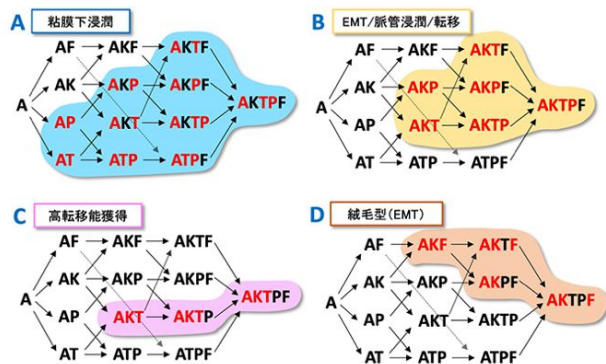


図 1. 遺伝子型の組み合わせによる腫瘍悪性化形質の変化

(gain-of-function, GOF) 変異と呼ばれている。興味深いことに GOF 変異 p53 は野生型 p53 とのヘテロ接合体では安定化しても核局在しないが、GOF p53 ホモ接合体の細胞では顕著な p53 核局在が観察され、オルガノイドの形状も複雑な腺管構造を示すようになる (図 2)。さらに変異 p53 発現による浸潤機構を明らかにするため、RNA シークエンスによる遺伝子発現解析を実施した結果、GOF 変異 p53 発現細胞では約 350 遺伝子の発現誘導が確認され、トランスクリプトームの大きな変化が認められた。発現解析結果を用いて IPA 解析により活性化パスウェイを探索した結果、興味深いことに Wnt/ β -catenin シグナルおよび自然免疫・炎症反応経路が顕著に活性化していることが明らかとなった。したがって、変異 p53 の発現は、Wnt 活性化による未分化性の亢進と、周囲の間質における炎症反応誘導による微小環境形成を促進すると考えられた。

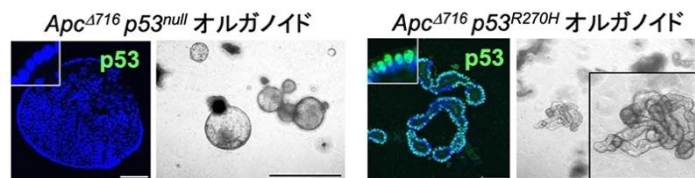


図 2 .p53 遺伝子変異に依存したオルガノイド構造の変化。p53 遺伝子欠損オルガノイド (左) および GOF 型 p53 変異ホモ接合体オルガノイド (右)。ホモの GOF 変異により核蓄積と腺管構造形成が見られる。

(2) Kras 活性化による上皮間葉転換 (EMT) 様構造変化と脈管浸潤

AT および AP マウスでは、粘膜下浸潤は認められるがそれ以上の悪性化形質は観察されなかった。それに対して、AKT および AKP の組み合わせで変異を持つマウスでは、粘膜下浸潤領域での腺管構造が見られなくなり、切片上では数個の細胞塊として観察されるなど、EMT 様の構造変化が認められた (図 1B、図 3 右)。さらに、リンパ管や血管内皮細胞を免疫染色により検出すると、腫瘍細胞が脈管の中に浸潤している像が認められた (図 3 左、緑色がリンパ管)。一方、AK マウスでは粘膜下浸潤を認めず、悪性化組織像は認められなかった。以上の結果から、変異型 p53 発現または TGF- β シグナル遮断に加えた Kras 活性化が、EMT 様変化と脈管浸潤を誘導されると考えられた。

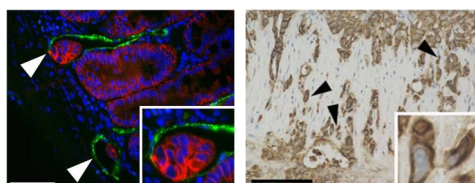


図 3 .AKTP 変異マウス粘膜下浸潤領域における細胞塊構造 (右) およびリンパ管内浸潤 (左)。

興味深いことに、AK マウス腫瘍細胞をオルガノイド培養し、マウス腸管粘膜下組織に移植すると、AKT および AKP マウスの腫瘍と類似した悪性化像が観察された。したがって、粘膜下に形成される微小環境と Kras 活性化の相互作用が悪性化を誘導する可能性が考えられた。

(3) 変異型 p53 発現または TGF- β シグナル遮断と Kras 活性化による肝転移

作製したマウスでは肝臓や肺への自然転移は認められなかったため、全ての遺伝子型マウスの腫瘍組織からオルガノイド培養を樹立し、B6 マウスおよび免疫不全マウスの脾臓に移植した。その結果、AKT および AKP を含む遺伝子変異の組み合わせのオルガノイドだけで肝転移が認められ、TGF- β シグナル遮断または変異型 p53 発現と Kras 活性化の組み合わせが大腸がん細胞の転移能獲得を誘導すると考えられた (図 1B)。特に AKT 変異を持つ AKTP や AKTPF オルガノイドで転移巣が多く、AKT または AKP をコアとした 4 重変異や 5 重変異オルガノイドで高い転移能を獲得することが明らかとなった (図 1C、図 4)。

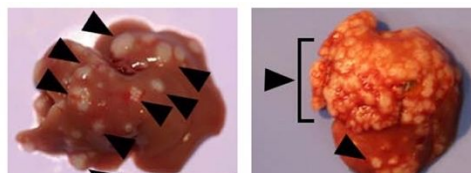


図 4 .AKTP (左) および AKTPF オルガノイド (右) 脾臓移植により発生した肝転移巣。

そこで、転移能を持たない ATP、低転移能の AKP、および転移能が次第に高くなる AKT、AKTP、AKTPF それぞれの腫瘍オルガノイドの発現解析を RNA シークエンスにより実施し、主成分解析を行った結果、それぞれの悪性化形質の進展にともない、特徴的な発現プロファイルの進化的変化を示すことが明らかとなった (図 5)。これらの遺伝子群の中に、転移制御因子が含まれる可能性が考えられた。

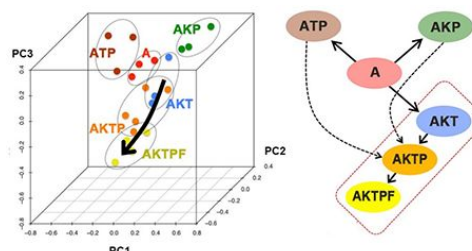


図 5 .オルガノイド RNA シークエンス結果の主成分解析。発現プロファイルの進化的な変化が認められる。

(4) Kras 活性化と Fbxw7 欠損による腫瘍構造変化

本研究では、Fbxw7 遺伝子の欠損による悪性化形質進展への影響は認められなかった。しかし、AKF の変異の組み合わせを持つマウスでは、粘膜内腫瘍と粘膜下浸潤腫瘍の双方で、腫瘍組織構造の顕著な変化が観察された。すなわち、他の遺伝子型マウスでは腺管構造を主体とする腫瘍を形成するのに対して、AKF を含むマウスでは絨毛型腫瘍を形成した (図 1D)。この変化による悪性化への影響については、今後のオルガノイドを用いた解析が必要である。

(5) 転移巣における免疫細胞浸潤

近年の免疫療法の開発により、がんの治療方針に大きな変革がもたらされている。そこで、原発腫瘍および肝転移巣を対象に各種免疫細胞の免疫染色を施した結果、粘膜下浸潤組織を含

む原発巣ではマクロファージ浸潤を認めるもののリンパ球浸潤は認められず、獲得免疫反応は誘導されていないと考えられた。一方で、オルガノイド移植により形成された肝転移巣では CD4 および CD8 陽性 T 細胞や B 細胞の顕著な浸潤が認められ、同じ遺伝子変異の組み合わせでも、転移巣では獲得免疫が誘導される可能性が示された。また、遺伝子変異の組み合わせの違いによる免疫反応の違いは見られなかった。以上の結果は、大腸がん細胞に対する免疫反応誘導機構を明らかにして、新規治療方法を開発する上でも重要な知見となり、今後の継続した解析が重要と考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Sakai E, Nakayama M, Oshima H, Kouyama Y, Niida A, Fujii S, Ochiai A, Nakayama KI, Mimori K, Suzuki Y, Hong CP, Ock CY, Kim SJ, and Oshima M. Combined mutation of Apc, Kras and Tgfr2 effectively drives metastasis of intestinal cancer. **Cancer Res**, 2018 Mar 78: 1334-1346, 2018.

doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-3303.

Nakayama M, Sakai E, Echizen K, Yamada Y, Oshima H, Han TS, Ohki R, Fujii F, Ochiai A, Robine S, Voon DC, Tanaka T, Taketo MM, and Oshima M. Intestinal cancer progression by mutant p53 through the acquisition of invasiveness associated with complex glandular formation. **Oncogene**, 36: 5885-5896, 2017.

doi: 10.1038/onc.2017.194.

Echizen K, Hirose O, Maeda Y and Oshima M. Inflammation in gastric cancer: Interplay of the COX-2/prostaglandin E₂ and Toll-like receptor/MyD88 pathways. **Cancer Sci** 107: 391-397, 2016.

doi: 10.1111/cas.12901.

Maeda Y, Echizen K, Oshima H, Yu L, Sakulsak N, Hirose O, Yamada Y, Taniguchi T, Jenkins BJ, Saya H, and Oshima M. Myeloid differentiation factor 88 signaling in bone marrow-derived cells promotes gastric tumorigenesis by generation of inflammatory microenvironment. **Cancer Prev Res**, 9: 253-63, 2016.

doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-15-0315.

Oshima H, Nakayama M, Han TS, Naoi K, Ju X, Maeda Y, Robine S, Tsuchiya K, Sato T, Taketo MM, and Oshima M. Suppressing TGF- β signaling in regenerating epithelia in an inflammatory microenvironment is sufficient to cause invasive intestinal cancer. **Cancer Res**, 75: 754-765, 2015.

doi: 1158/0008-5472.CAN-14-1301.

〔学会発表〕(計 30 件)

大島正伸 . ドライバー変異の組み合わせが促進するがん悪性化機構 . 北海道大学遺伝子病制御研究所「感染・免疫・がん・炎症」シンポジウム. (2018年3月26日, 札幌)

Oshima M. Comprehensive phenotype characterization of intestinal tumors with various driver mutations. Annual Meeting of International Society of Precision Cancer Medicine (ISPCM) (2018年3月17日, 釜山, 韓国)

大島正伸 . がんの発生, 進展における慢性炎症の役割 . CREST 公開シンポジウム「サイレントキラー・慢性炎症はどこまでわかったか」. (2018年2月27日, 東京)

Oshima M. Nuclear mutant p53 induces colon cancer progression through induction of aberrant and invasive tumor glands. 第40回日本分子生物学会 第90回日本生化学会 合同年次大会. (2017年12月8日, 神戸)

Oshima M. Recapitulating human colon cancer malignant progression in mouse model. The 12th International Symposium of Institute Network. (2017年11月28日, 東京)

Oshima M. Malignant progression of intestinal cancer by combination of driver mutations. The 3rd Special International Symposium on “Current Trends in Cancer and Signaling”. (2017年11月24日, 蔚山, 韓国)

Oshima M. Malignant progression of colon cancer through genetic alterations associated with microenvironment generation. 第28回日本消化器病発生学会総会 第9回国際消化器病発生学会議. (2017年11月18日, 熊本)

Oshima M. Comprehensive phenotypic characterization of intestinal cancer with multiple driver mutations. 第48回高松宮妃癌研究基金国際シンポジウム. (2017年11月7日, 東京)

大島正伸 . 炎症反応依存的な胃癌における NOX1 活性誘導 . 第14回レドックス・ライフイノベーションシンポジウム. (2017年10月27日, 仙台)

Oshima M. Combination of driver mutations for malignant invasion and metastasis. 第76回日本癌学会学術総会 (International Session). (2017年9月29日, 横浜)

大島正伸 . 消化器がんにおける遺伝子変異と微小環境相互作用の解明と治療へのアプローチ . 第15回日本臨床腫瘍学会学術集会. (2017年7月28日, 神戸)

Oshima M. Molecular subtypes and evolution of colon cancer. The10th Annual Meeting of Singapore Gastric Cancer Consortium (SGCC), (2017年7月19日, シンガポール)

Oshima M. Inflammatory microenvironment for gastrointestinal cancer progression. The Joint Symposium on Tumor Microenvironment and Precision Oncology. (2017年5月22日, ソウル,

韓国)

Oshima M. Gastric cancer promotion by innate immunity and chronic inflammation. 第 89 回日本胃癌学会総会。(2017 年 3 月 9 日, 広島)

Oshima M. Multistep co-evolution of cancer and microenvironment toward malignancy. AMED-Alberta workshop for medical innovation。(2017 年 2 月 25 日, カルガリー, カナダ)

Oshima M. The role of chronic inflammation in gastric cancer development. Seoul International Gastric Cancer Forum。(2016 年 12 月 3 日, ソウル, 韓国)

大島正伸, 中山瑞穂, 坂井絵梨, 大島浩子. ドライバー遺伝子変異によるがんの新規悪性化誘導機構. 第 39 回日本分子生物学会年会(シンポジウム),(2016 年 12 月 2 日, 横浜)

Oshima M. Cancer malignant progression and microenvironment. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会(シンポジウム),(2016 年 10 月 25 日, 札幌)

Oshima M. Interaction of genetic alterations and microenvironment during generation of tumor heterogeneity. 第 75 回日本癌学会学術総会(コアシンポジウム).(2016 年 10 月 6 日, 横浜)

大島正伸. 慢性炎症反応による発がん と悪性化の誘導. 第 89 回日本生化学会大会。(2016 年 9 月 27 日, 仙台)

- ⑳ Oshima M. Inflammatory microenvironment that accelerates gastrointestinal tumorigenesis. The 9th Annual Meeting of Singapore Gastric Cancer Consortium (SGCC).(2016 年 7 月 21 日, シンガポール)
- ㉑ 大島正伸. 微小環境が促進する消化器がんの発生と悪性化進展. 第 40 回日本リンパ学会総会。(2016 年 6 月 25 日, 東京)
- ㉒ Oshima M. The role of chronic inflammation in gastric cancer development. The 16th Annual Meeting of the Nitric Oxide Society of Japan。(2016 年 5 月 21 日, 仙台)
- ㉓ Oshima M. Invasive intestinal cancer by TGF- β suppression in an inflammatory microenvironment. AACR-JCA 10th Joint Conference。(2016 年 2 月 20 日, ハワイ, 米国)
- ㉔ 大島正伸. 慢性炎症反応による発がん・進展促進機構. 日本がん分子標的治療学会第 11 回トランスレーショナルリサーチワークショップ。(2016 年 1 月 15 日, 東京)
- ㉕ Oshima M. Chronic inflammation in gastrointestinal tumor development and progression. 20th International Conference of Korean Society of Cancer Prevention。(2015 年 12 月 11 日, 韓国)
- ㉖ 大島正伸. ドライバー遺伝子変異と微小環境の相互作用による大腸がん悪性化機構. BMB2015。(2015 年 12 月 4 日, 神戸)
- ㉗ Oshima M. The role of chronic inflammation in gastric cancer development. 第 74 回日本癌学会学術総会(シンポジウム).(2015 年 10 月 9 日, 名古屋)
- ㉘ 大島正伸. 自然免疫によるがん組織での炎症誘導と発がん促進. 第 3 回がんと代謝研究会。(2015 年 7 月 17 日, 金沢)
- ㉙ 大島正伸. 慢性炎症が促進するがんの発生. 日本獣医臨床病理学会大会(2015 年 5 月 30 日, 東京)

〔図書〕(計 13 件)

大島正伸. がん転移の動物モデル. 日本臨床「がん転移学・下」(日本臨床社)345-349, 2017.

大島浩子, 越前佳奈恵, 中山瑞穂, 大島正伸. 炎症性微小環境が促進する消化器がんの発生と悪性化進展. リンパ学(日本リンパ学会機関誌)vol. 40, 43-47, 2017.

大島浩子, 大島正伸. NSAIDs と消化器がん発生. Bio Clinica(北隆館)vol. 32, 1082-1086, 2017.

大島正伸. 炎症とがんの発生・進展. 炎症と免疫(先端医学社)vol. 25, 146-150, 2017.

Oshima H, Echizen K, Maeda Y, and Oshima M. The role of chronic inflammation in the promotion of gastric tumorigenesis. **Chronic Inflammation**, Eds by Miyasaka M, Takatsu K. Springer, 173-186, 2016. doi: 10.1007/978-4-431-56068-5.

Oshima H, Nakayama M, and Oshima M. The role of inflammation responses in mouse gastric tumorigenesis. **Helicobacter pylori Research**, Eds by Backert S, and Yamaoka Y. Springer, 325-338, 2016. doi: 10.1007/978-4-431-55936-8.

大島浩子, 越前佳奈恵, 大島正伸. 遺伝子変異と微小環境の相互作用による発がん. 実験医学.(羊土社), 34: 2294-2299, 2016.

大島正伸. 特集「発がん」企画. 実験医学(羊土社), 34: 2258-2306, 2016.

越前佳奈恵, 大島正伸. がんの発生と悪性化を促進するマクロファージ. 医学のあゆみ(医歯薬出版), 258: 35-40, 2016.

大島正伸. 慢性炎症とがん. 感染 炎症 免疫(鳥居薬品, 羊土社), 45: 96-103, 2015.

大島浩子, 大島正伸. COX-2/PGE₂経路による発がん促進機構. 増刊「脂質疾患学」. 実験医学(羊土社), 33: 2474-2478, 2015.

大島正伸. がんにおける炎症反応の役割—その捉え方の変遷. 増刊「がん微小環境と標的治療」(編集). 実験医学(羊土社), 33: 718-719, 2015.

大島浩子, 大島正伸. 消化管がん発生を促進する慢性炎症. 臨床免疫・アレルギー科(科学評論社), 63: 538-542, 2015.

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：オルガノイド及びその利用
発明者：大島正伸，坂井絵梨，中山瑞穂
権利者：国立大学法人金沢大学
種類：特許
番号：特願 2017-049202 号
出願年：平成 29 年 3 月 14 日
国内外の別： 国内

取得状況（計 1 件）

名称：がんの予防用または治療用部室のスクリーニング方法
発明者：大島正伸，石川智夫，大島浩子
権利者：国立大学法人金沢大学
種類：特許
番号：特許第 6218210 号
取得年：平成 29 年 10 月 6 日（登録）
国内外の別： 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://genetics.w3.kanazawa-u.ac.jp>

6．研究組織

(1)研究分担者

該当なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大島 浩子
ローマ字氏名：(OSHIMA, Hiroko)

研究協力者氏名：中山 瑞穂
ローマ字氏名：(NAKAYAMA, Mizuho)

研究協力者氏名：越前 佳奈恵
ローマ字氏名：(ECHIZEN, Kanae)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。