

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08879

研究課題名(和文) 肥満と老化による代謝変化を慢性炎症に変換する新規病態制御機構の解析

研究課題名(英文) A novel mechanism to regulate chronic inflammation through metabolic remodeling in obesity and senescence

研究代表者

緒方 正人 (OGATA, Masato)

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号：60224094

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：慢性炎症は、メタボリックシンドロームやがんなど多くの疾患と関わることが知られている。しかし、慢性炎症を生じる詳細な機構は、不明な点が多い。我々はI型糖尿病や老化モデルマウスの病態に慢性炎症のシグナル経路が関わることを明らかにした。さらに、細胞老化によりRB依存的に代謝リモデリングが生じ、それが炎症性サイトカイン遺伝子のエピゲノム変化を介して細胞老化随伴分泌現象に影響を及ぼすことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性炎症は多くの疾患と関わることから、それを生じる機構の解明は病態の理解や治療に欠かせない。本研究結果は、細胞老化によって生じる代謝リモデリングから遺伝子発現変化に至る分子機構を明らかにすることで、生活習慣病やがんの促進因子の理解と制御に役立つ。また、エピゲノム解析の目的で開発した新手法は、これまで困難であった単細胞での網羅的なゲノム構造変化を解析でき、本研究のみならず遺伝子の構造制御機構の解明にも有用である。

研究成果の概要(英文)：It is well established that the chronic inflammation is implicated in many diseases such as metabolic syndrome and cancer. However, the precise mechanism of the chronic inflammation has not been clarified yet. We have found that the chronic inflammation signaling cascade is involved in the development of type I diabetes and the accelerated aging in mouse models. Furthermore, we have demonstrated that the senescence of cells results in the metabolic remodeling which can induce the epigenetic modifications of proinflammatory cytokine genes and thus, can affect the senescence-associated secretory phenotype.

研究分野：免疫学

キーワード：慢性炎症 代謝症候群 細胞老化 MAPキナーゼ エピゲノム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症は、肥満や老化で誘発され、糖尿病や代謝症候群、がんなどのいわゆる成人病や認知症の原因や促進因子と考えられている。肥満は、脂肪細胞のケモカイン CCL2 分泌を誘導し、M1 マクロファージを中心とした慢性炎症を引き起こす。炎症性サイトカインは、インスリン抵抗性や組織傷害、がん細胞の増殖を促進する。

糖尿病では、近年メタボリックメモリー (metabolic memory) が注目されている。高血糖の病歴があると、5 年以上良好な血糖管理を経てもなお動脈硬化等の合併症リスクが高いことが疫学的に示されている。過去の高血糖の記憶が後まで残るメタボリックメモリーの機構は、様々な糖代謝産物がエピゲノム修飾酵素の反応制御を行い、遺伝子のエピゲノム変化を誘導するため、と考えられる。糖尿病患者の末梢単核球では、ヒストンメチル化酵素 Set7 の発現亢進、NF- κ B p65 遺伝子プロモータ領域のヒストンメチル化 (H3K4me1)、NF- κ B p65 やその下流の酸化・炎症関連遺伝子の発現亢進などが報告され、それらが代謝の記憶に反映されると考えられる。つまり、代謝の変化が慢性炎症に関わるエピゲノム変化を生み、それがさらに病態に影響するという機構が考えられる。しかし、肥満や老化が代謝変化 (リモデリング) を介して慢性炎症を制御する機構の実態は明らかでない。

我々は、MAP キナーゼ p38 の機能を個体レベルで解明してきたが、肥満による慢性炎症と耐糖能低下を血球系細胞の p38 経路が促進することを、p38 の血球系特異的な遺伝子欠損マウスで見出した。p38 はまた、細胞老化随伴分泌現象 (senescence-associated secretory phenotype) の炎症性サイトカイン分泌を NF- κ B を介して促進すると報告されている。細胞老化について我々は、RB 分子が細胞周期を停止させる従来機能に加え、解糖系優位な代謝リモデリングを誘導する新機能をもつことを報告している (竹林ら)。

以上から、慢性炎症制御に、代謝変化やエピゲノム変化の関わる新規機構があり、また、そこに p38 が関与する可能性があると考えに至った。

2. 研究の目的

慢性炎症は、生活習慣病やがんなどの成人病の促進因子と考えられている。肥満や老化は慢性炎症の誘因となり、成人病の危険因子であることは良く知られている。肥満や老化が慢性炎症を生じる機構には、最近、代謝の変化で誘導されるエピジェネティックな機構が考えられるようになったが、代謝の変化を炎症に転換する機構の詳細は不明な点が多い。

我々は、MAP キナーゼ p38 が個体レベルの慢性炎症に関わるというこれまでの研究業績と、細胞老化により代謝リモデリングを生じるという独自の知見、さらに単一細胞でエピジェネティックな変化を生じたゲノム機能ドメインを網羅的に検索できる独自の新手法を活用して、代謝リモデリングが慢性炎症を介して各種疾患の発症・促進に至る新規機構について、代謝で誘導されるエピゲノム変化を中心に明らかにする。

3. 研究の方法

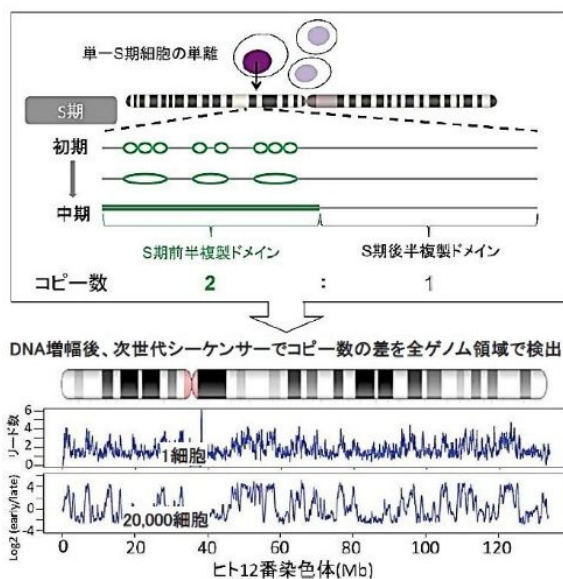


図1. DNA複製中のコピー数の差による複製ドメイン構造の検出

遺伝子が活発に働くユークロマチン領域は S 期の前半に、逆にヘテロクロマチン領域は後半に複製される。S 期の中間に DNA を回収し、領域ごとに本数を数えれば、S 期前半に複製される領域 (本数が多い) と S 期後半に複製される領域を区別してマップでき、これはゲノム機能ドメイン構造の網羅的な解析法として確立されている。一方、in vivo や ex vivo の解析では、サンプル細胞数が限られこの解析の困難さが予想される。この点につき研究分担者の竹林は、DNA 増幅を最適化して単一細胞でも解析可能な新手法を開発した。

(1) 高血糖および老化促進モデルマウス

高血糖については、マウスへのストレプトゾトシン投与で膵細胞を破壊し 1 型糖尿病を誘導すると、肥満が無い高血糖のみの影響を検討できる。即ち、肥満によらない代謝変化の影響を生体レベルで検討できる。

また、老化については、老化促進 Klotho マウスで解析する。このマウスは、解糖系が亢進する老化細胞に似た代謝変化が見られ、血糖値は低く、肥満も抑制されるが、p38 の活性上昇がみられるとされている。

(2) 単一細胞におけるゲノム構造の網羅的解析手法

最近エピゲノム制御で重要と考えられている、数 Mb サイズの機能ドメインの網羅的解析を行う。網羅的ゲノム構造解析に独自の新規解析法 (図 1) を用いる。ゲノム DNA の複製は、多数の複製開始点から始まるが、その位置や複製時期は、ゲノム構造で変化する。一般に、

(3) 老化細胞のエピゲノム解析

上記(2)の手法は、単一細胞のゲノム構造の解析ができるという大きな利点があるが、ゲノムの複製ドメインを解析するという原理上の制約から、細胞分裂しない、すなわち DNA 複製しない老化細胞のエピゲノム解析には適さない。そこで、老化細胞のエピゲノム解析については、従来のクロマチン免疫沈降 (ChIP: chromatin immunoprecipitation) 法で DNA メチル化、ヒストン修飾などの解析を行った。

4. 研究成果

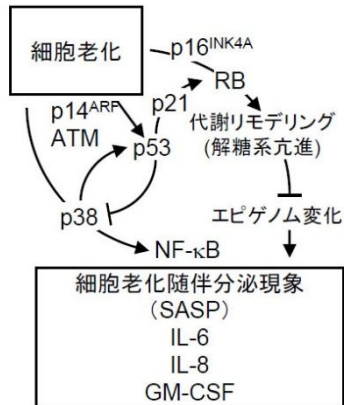


図2. 細胞老化と細胞老化随伴分泌現象(モデル)

トシンを投与することで、膵細胞の障害によるⅠ型糖尿病モデルマウスを作成した。処置マウスは、予想通り高血糖を示し、膵における炎症性サイトカイン遺伝子発現も亢進しモデルマウスとして使用できる目途が立った。

また、老化については、老化促進 Klotho モデルマウスについて検討した。このマウスの各種臓器について、細胞老化関連遺伝子の発現を解析したところ、複数臓器で細胞老化を促進する作用で知られる p16 遺伝子 (図 2) の発現が上昇することを確認した。即ち、個体の老化促進マウスとして知られる Klotho マウスで、生体レベルでも細胞老化と同様な分子機構が作動していることが確認できた (図 2)。またこの事実から、組織における p16 の発現を指標にして様々な処置が個体レベルの細胞にどう影響するか検討できる可能性が示された。

次にこれらマウスモデルで、慢性炎症環境が病態に関わる可能性を検討した。既に述べたように我々は、肥満による慢性炎症に p38 MAP キナーゼ経路が関わることを遺伝子改変マウスを用いて明らかにしている。p38 MAP キナーゼ経路はまた、細胞レベルでは慢性炎症環境の一つと言える老化随伴分泌現象にも関わりと報告されている (図 2)。そこでこれらのモデルマウスに p38 MAP キナーゼの阻害剤を投与し、個体レベルでの影響を検討した。その結果、高血糖モデルマウスでは、病態 (高血糖) の進行の改善が、また、老化促進 Klotho モデルマウスでも平均寿命、最大寿命がともに延長された。以上から、高血糖モデルマウスおよび老化促進モデルマウスのいずれにおいても、p38 MAP キナーゼ経路を介した慢性炎症のシグナル機構が個体レベルで病態や老化に関与する可能性が示された。

(2) 単一細胞におけるゲノム構造の網羅的解析手法の確立

細胞周期の S 期にある細胞集団からの抽出サンプルを用いてゲノムの複製ドメインを解析し、それによってゲノムの機能単位の構造変化をとらえる手法は、既に実績がある。しかし、竹林が開発した単一細胞の複製ドメイン解析を可能とする新手法は、DNA の増幅のステップを含んでおり、フィージビリティ・スタディが必要である。そこでまずヒト細胞を用いて単一細胞から得たサンプルを DNA 増幅後に個別に解析し、得られた DNA 複製プロファイルを相互に比較したが、それらは互いによく似ていた。また、S 期にある細胞集団 (100 個) からの抽出サンプルを用いた DNA 増幅を行わない解析結果ともよく一致した。

次にマウスの ES 細胞を用いて、父親由来と母親由来の相同染色体の構造変化を見分けられるかどうか検討した。複製されたゲノム断片の一塩基多型を解析すれば、それが父親と母親のいずれに由来するかを区別でき、父親由来と母親由来の染色体の DNA 複製プロファイルを区別することが可能となる。未分化な単一の ES 細胞から得られたサンプルの解析で、父親由来と母親由来の X 染色体の DNA 複製プロファイルは、互いによく一致し、S 期にある細胞集団 (10,000 個) から得られたサンプルを用いた DNA 増幅を行わない解析結果ともほぼ同一であった。

一方、細胞が分化すると、父親由来と母親由来の X 染色体は、片方がランダムに不活性化されることが知られている。そこで、ES 細胞を神経外肺葉に分化誘導してから同様の単一細胞の解析を行った。すると、どちらか一方の X 染色体のみ染色体全域の DNA 複製が S 期の後半ヘシフトすることが示された。このような複製ドメインの染色体全域にわたる変化は、X 染色体がランダムに不活性化された細胞の混合である細胞集団のサンプルでとらえることは不可能で、この新手法によって初めて観察可能となったものである。

一方で、相同染色体上には、いわゆるインプリンティングによると思われる、父親由来と母親

慢性炎症と代謝や老化を結ぶ機構を解析するため、マウスモデルによって慢性炎症と病態が生体レベルでどう関連するかを検討した。また、この研究ではエピゲノム変化の解析が必要になることから、ゲノム構造の変化を単一細胞で網羅的に解析可能とする新手法について、その有用性を検証した。さらに、我々が老化細胞で見出した糖代謝経路の変化がエピゲノム修飾を介して慢性炎症環境に影響を及ぼす機構について明らかにした。

(1) 代謝リモデリングモデルマウスの作成と解析

高血糖や細胞老化は代謝リモデリングを生じる。それらのモデルマウスを作成し、その病態や変化に慢性炎症経路が関与しているか検討した。

高血糖のモデルマウスについては、ストレプトゾ

由来でゲノム複製のタイミングの違う部分が存在する。このような部分について単一細胞の解析を行うと、DNA複製プロファイルで早期に複製される領域の遺伝子の発現が高い傾向にあった。

以上から、この新手法が遺伝子機能に関わる構造変化を単一細胞レベルでとらえられることが示され、本研究の今後の推進に向けて極めて強力な解析手段となることが明らかとなった。

なお、この新手法は、エピゲノム研究の新しい分野を開くポテンシャルを秘めている。興味深いことに、均一な細胞集団でも一つ一つの細胞のDNA複製プロファイルを比べると、一部に揺らぎが見られる領域があった。この領域には、発生過程で発現が変化する事の知られた遺伝子が多く分布していた。つまり、細胞分化によって遺伝子機能が変化する領域の構造変化を本手法はリアルタイムに単一細胞レベルでとらえている可能性がある。分化しつつある細胞集団に含まれる個々の細胞を本手法で解析し tSNE などの手法で分析すれば、分化に伴ってゲノム構造がどのように変化していくかをゲノムワイドに解析できる革新的な解析手段となることが期待される。

(3)細胞老化と慢性炎症環境を結ぶエピゲノム機構の解析

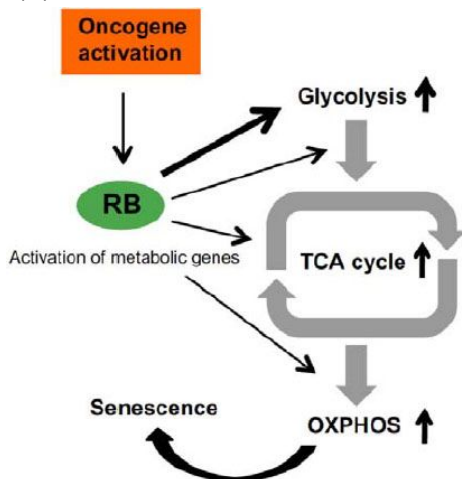


図3. RBによる細胞老化と代謝変化

細胞老化の解析で、RB が代謝変化を誘導することを既に報告している (Takebayashi S., et. al. Aging Cell 2015, 14, 689-697.) (図3)。即ち、がん遺伝子 RAS の過剰発現で細胞老化を誘導すると、解糖系や、それに続くミトコンドリアの酸化的リン酸化 (エネルギー産生) の代謝亢進が見られた。糖代謝の測定は、培養系で ECAR (extracellular acidification rate) を経時的に測定し、そこにグルコース (糖代謝の基質) や、2-デオキシグルコース (糖代謝の阻害剤) を加えた際の ECAR の変動幅によって行った。また、酸化的リン酸化の測定は、オリゴマイシン (ATP 合成酵素阻害剤) や FCCP (酸化的リン酸化反応の脱共役剤)、ロテノンやアンチマイシン (電子伝達系の阻害剤) を加えた際の ECAR の変動幅によって行った。これらの代謝変化は、siRNA による RB のノックダウンで抑制されたことから、RB 依存的に生じていた。RB が解糖系や酸化的リン酸化を促進する機構としては、解糖系酵素の遺伝子発現が RB 依存的

に亢進すること、RB が解糖系遺伝子に結合することから、RB による解糖系遺伝子の転写制御によるものと考えられた。実際、発現が上昇していたホスホフルクトキナーゼ (解糖系酵素) の発現を siRNA で抑制すると、亢進していた解糖系や酸化的リン酸化が共に抑制された。

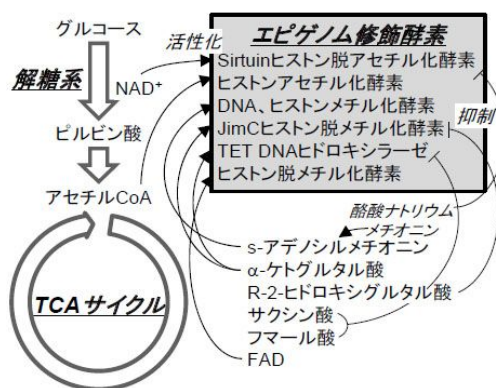


図4. 糖代謝産物によるエピゲノム制御

細胞老化では、細胞老化随伴分泌現象 (SASP) という現象が知られており、これが慢性炎症環境に関わると考えられる。そこで我々が見出した RB 依存的な糖代謝変化が SASP とどのように関連するか解析を進めた。まず、RB と SASP の関係を検討した。IL-1 や IL-1 は SASP の代表的な炎症性サイトカインである。老化細胞の RB を siRNA で抑制したところ、IL-1 や IL-1 の遺伝子発現は亢進した。即ち、RB は細胞老化を促進する遺伝子であるが、その結果生じる SASP に対しては、むしろ抑制的に作用していることが明らかになった。次に、RB の下流で生じる糖代謝の亢進と SASP の関係を検討した。老化細胞に 2-デオキシグルコースを加え糖代謝を抑制したところ、RB の抑制と同様に IL-1 や IL-1 の遺伝子発

現の亢進が見られた。以上から、老化細胞でみられる RB 依存的な糖代謝亢進は、SASP を抑制することが示された (図2)。

続いて、糖代謝系がどのように SASP に影響を及ぼすかの検討を行った。糖代謝に関連する多くの代謝産物が、エピゲノム修飾酵素に影響を及ぼすことが報告されている (図4)。従って、糖代謝の産物が、IL-1 や IL-1 の遺伝子のエピゲノム変化を引き起こし、それらの遺伝子発現に影響を及ぼす可能性が考えられた。これを解明するには、どのような代謝産物が、どのようなエピゲノム修飾酵素を介して、IL-1 や IL-1 遺伝子のどのようなエピゲノム構造変化を生じるかを明らかにする必要がある。まず初めに、老化細胞における代謝産物を測定した。予想通り、老化細胞では解糖系の多くの代謝産物が増加していた。これらの増加は、RB のノックダウンで抑制された。また、老化細胞でエピゲノム修飾に影響を及ぼすことが知られた S-アデノシルメチオニン (図4) の量的変化も認めた。

次に、エピゲノム修飾酵素の関与について検討した。前述の S-アデノシルメチオニンは、DNA やヒストンのメチル化反応を促進することが知られている (図4)。そこで、老化細胞に G9a ヒストンメチル基転移酵素の阻害剤を添加したところ、IL-1 遺伝子発現の亢進が見られた。同様な変化は、G9a ヒストンメチル基転移酵素の siRNA によるノックダウンや、細胞培養液中からメチオニンを除去しメチル化反応を抑制することでも認められた。メチオニン除去で IL-1 遺伝

子発現の亢進した老化細胞に S-アデノシルメチオニンを添加すると、IL-1 遺伝子発現が抑制された。

以上から、RB-糖代謝経路による IL-1 遺伝子発現の抑制に、S-アデノシルメチオニンと G9a ヒストンメチル基転移酵素が関与する可能性が示された。G9a ヒストンメチル基転移酵素は、H3K9 や H3K27 のモノメチル化を行うことが知られている。そこで、IL-1 遺伝子のヒストンのメチル化を検討した。老化細胞においては、IL-1 遺伝子の H3K9me2 や H3K27me3 のメチル化の亢進が認められた。この亢進は、メチオニン除去で抑制された。一方、コントロールの H3K4me3 のメチル化については、細胞老化での亢進は認められなかった。

以上から、RB-糖代謝経路による SASP の抑制機構の一つとして、S-アデノシルメチオニン G9a ヒストンメチル基転移酵素 H3K9me2 や H3K27me3 のメチル化の亢進という経路が明らかになった。しかし、これが唯一の経路とは限らない。例えば、アデノシルメチオニンにはヒストンのみならず DNA のメチル化への関与も知られている。そこで SASP に関わるサイトカイン群の遺伝子について、エピジェネティクス酵素阻害剤ライブラリーを用いたスクリーニング実験を行ったところ、SASP 関連サイトカイン群の遺伝子発現制御には DNA メチル化酵素 (DNMTs) も関与することも明らかになった。さらに老化関連サイトカイン群以外の遺伝子も含めゲノム網羅的な DNA メチル化解析 (イルミナ社のビーズアレイを用いた解析) を行い、老化に伴い DNA メチル化レベルが変化する遺伝子の候補の同定に成功した。今後バイサルファイトシーケンス法を用いて個々の遺伝子の詳細なメチル化解析を行うことで、SAM-DNMTs 経路の標的遺伝子の同定が可能となると期待される。

細胞老化は、がん化を防ぐ機構であると同時に、SASP に代表される慢性炎症環境によってがん化促進環境を提供するという二面性を持っている。RB はがん抑制遺伝子として知られており、細胞老化を促進することでがん化を抑制する。一方で、我々の新規知見は、RB-糖代謝経路がエピゲノム修飾を介して SASP というがん促進環境についても抑制的に作用するというを示すものであり、細胞老化と RB、がんの関係の理解を深めるものといえる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ikuno Akihiro, Akeda Koji, Takebayashi Shin-ichiro, Shimaoka Motomu, Okumura Katsuzumi, Sudo Akihiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Genome-wide analysis of DNA methylation profile identifies differentially methylated loci associated with human intervertebral disc degeneration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0222188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） DOI: 10.1371/journal.pone.0222188	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Miura Hisashi, Takahashi Saori, Poonperm Rawin, Tanigawa Akie, Takebayashi Shin-ichiro, Hiratani Ichiro	4. 巻 51
2. 論文標題 Single-cell DNA replication profiling identifies spatiotemporal developmental dynamics of chromosome organization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Genetics	6. 最初と最後の頁 1356 ~ 1368
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41588-019-0474-z	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takebayashi Shin-ichiro, Ogata Shin, Ogata Masato, Okumura Katsuzumi	4. 巻 82
2. 論文標題 Mapping mammalian replication domains using the ion torrent semiconductor sequencing platform	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2098 ~ 2100
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2018.1515617	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hassan Wael Abdo, Takebayashi Shin-ichiro, Abdalla Mohamed Osama Ali, Fujino Kosuke, Kudoh Shinji, Motooka Yamoto, Sato Yonosuke, Naito Yoshiki, Higaki Koichi, Wakimoto Joeji, Okada Seiji, Nakao Mituyoshi, Ishikawa Yuichi, Ito Takaaki	4. 巻 97
2. 論文標題 Correlation between histone acetylation and expression of Notch1 in human lung carcinoma and its possible role in combined small-cell lung carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 913 ~ 921
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/labinvest.2017.36	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takebayashi Shin-ichiro, Ogata Masato, Okumura Katsuzumi	4. 巻 8
2. 論文標題 Anatomy of Mammalian Replication Domains	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 110 ~ 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes8040110	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shiokawa Moe, Lu Xiuyuan, Miyake Yasunobu, Ishikawa Eri, Pages Gilles, Pouyssegur Jacques, Ogata Masato, Yamasaki Sho	4. 巻 29
2. 論文標題 Spontaneous chondroma formation in CD2-Cre-driven Erk-deficient mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 479 ~ 485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxx056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Shin-ichiro Takebayashi, Sadatsugu Ookuma, and Masato Ogata
2. 発表標題 The role of metabolic activity of senescent cells in controlling cytokine gene expression
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹林慎一郎、柴田隆豊、高橋沙央里、三浦尚、平谷伊智朗、奥村克純、緒方正人
2. 発表標題 哺乳類染色体複製ドメイン構造を単一細胞レベルで解析できるscRepli-seq法の開発
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shin-ichiro Takebayashi, Takahiro Shibata, Saori Takahashi, Hisashi Miura, Ichiro Hiratani, Katsuzumi Okumura, Masato Ogata
2. 発表標題 Mapping replication domains genome-wide in single mammalian cells
3. 学会等名 Gordon Research Conference
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	竹林 慎一郎 (TAKEBAYASHI Shin-ichiro) (50392022)	三重大学・生物資源学研究所・准教授 (14101)	
研究分担者	大隈 貞嗣 (OOKUMA Sadatsugu) (70444429)	三重大学・医学系研究科・助教 (14101)	