

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月19日現在

機関番号：22701

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2008～2012

課題番号：20116005

研究課題名（和文）

培養系を用いたマウスGSC/ニッチ・システムの解明と分化誘導系の開発

研究課題名（英文）

Regulatory mechanism of mouse GSC/niche system and *in vitro* spermatogenesis

研究代表者

小川 毅彦 (OGAWA TAKEHIKO)

横浜市立大学・医学研究科・准教授

研究者番号：50254222

研究成果の概要（和文）：

マウス精子幹細胞（SSC）から *in vitro* において精子を産生する培養法を開発した。器官培養法を採用し、血清代替物を用いた培養法で、精子形成を完遂させ、精子産生に成功した。また、培養下で増殖させたマウス SSC を宿主マウス精巣の精細管内に注入移植し、その精巣組織片を器官培養することで、培養 SSC 由来の精子産生と顕微授精による産仔にも成功した。さらに不妊モデルである *SI/SI<sup>d</sup>* マウスの精巣組織片を培養し、精子形成を誘導することに成功した。

研究成果の概要（英文）：

We succeeded to produce mouse sperm from spermatogonial stem cells (SSCs) *in vitro*. We adopted an organ culture method, and found that serum replacement was effective to induce complete spermatogenesis in our system. When cultured SSCs were transplanted into the seminiferous tubules of extracted host testes, they also differentiated into sperm in the cultured testis tissues. In addition, we demonstrated that an infertile model mouse, *SI/SI<sup>d</sup>* mutant, can be treated with the explantation of their testis tissues.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	22,300,000	6,690,000	28,990,000
2009年度	27,300,000	8,190,000	35,490,000
2010年度	27,300,000	8,190,000	35,490,000
2011年度	30,400,000	9,120,000	39,520,000
2012年度	27,400,000	8,220,000	35,620,000
総計	134,700,000	40,410,000	175,110,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：精子形成、精子幹細胞、器官培養

### 1. 研究開始当初の背景

マウス精子幹細胞（SSCs）の研究は、1960～1970年代に形態学的な手法（トレーサー実験等）を用いて詳細に調べられてきた歴史的経緯があるが、そこにはまだ多くの謎が残されていた。1994年にSSCsの移植法が開発されたことでSSCsの幹細胞アッセイが可能となり、2003年にマウスSSCsの培養下増殖法

が開発されるに至り（GS細胞）、その自己複製増殖や分化に関する分子レベルでの研究が可能になってきたと言える。研究代表者らは、それら最新の実験技術に精通しており、本研究のテーマであるSSCsのニッチ・システムのメカニズムとSSCsを分化誘導して精子産生する培養系の開発に取り組む準備を行っていた。

## 2. 研究の目的

生涯に亘って自らを維持しながら膨大な数の精子を産生し続けるのが SSC である。本研究においては、1) その SSC を支えるニッチ・システムのメカニズムを培養系を用いて解明し、その成果に基づいてヒト SSC の培養法を開発する、2) さらに精子幹細胞から精子を産生できる培養系を開発する、という 2 つを研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 篠原らによって開発されたマウス SSCs の培養法に準じ、未成熟マウスの精巣細胞を蒔き、非接着の細胞を集めることで精子幹細胞を濃縮し、これをフィーダー細胞の上で培養した。培養液には GDNF, bFGF の入った StemPro34 を用いた。SSCs は一定数の集団になって初めて増殖する傾向があり、クローニングが難しい。そこで胚培養で用いられるマイクロドロップ法を用いた培養を行った。これにより、少数の SSCs を経時的に観察することが可能となり、培養液に種々の因子を添加した影響を検定した。

(2) *in vitro* 精子形成には約 1 世紀の歴史があり、これまで種々の方法が用いられてきている。研究代表者は、精子形成には精巣内の体細胞の役割が必須であろうとの認識から、精巣内環境をそのまま利用する古典的な器官培養法の有用性を再検討した。器官培養法のスタンダードである気層液層境界部培養法に準じて実験を繰り返した結果、培養液に半分浸したアガロースゲル上に精巣組織片を乗せて培養するというシンプルな方法に行きついた (図 1)。評価方法を簡便にするために、減数分裂の中期および終末期に GFP が生殖細胞に発現する 2 種類のトランスジェニックマウス (Tg) *Acr* (*Acrosin*)<sup>-</sup>GFP Tg および *Gsg2* (*Germ cell specific gene2*)<sup>-</sup>GFP Tg を用いた。*Acr*-GFP Tg はアクロソームが GFP を発現するため円形精子細胞の同定にも有用であった。

## 4. 研究成果

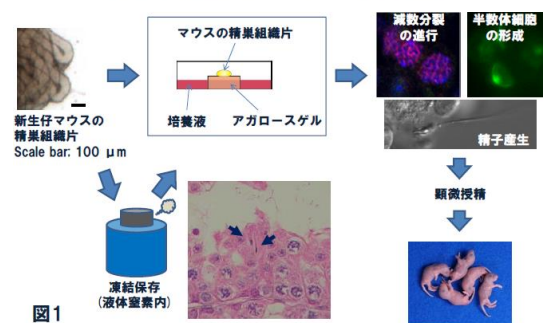
(1) ヒト SSC の培養実験における障害の一つは、サンプル採取に関するものであり、利用できるサンプル量がきわめて微量であるということにある。実際、微小サンプルから SSC 細胞株を樹立することはマウスにおいても困難である。そこでマウスを用いて少数の SSCs をマイクロドロップ内で培養する方法を開発した。これにより幹細胞アッセイも可能になり、同時に培養条件の詳細な検討もできることがわかった (論文⑧)。

(2) 器官培養法において培養条件を検討し

たところ、培養温度は 34°C、培地は  $\alpha$  MEM 培地に血清代替物である KSR (knockout serum replacement) を 10% 添加するのが最適な条件であることが分かった。この条件において GFP 発現が 2 か月以上維持され、減数分裂、円形精子細胞、鞭毛をもつ精子を認めた。それら円形精子細胞および精子の妊孕能を確認するために顕微授精を行い、産仔が得られ順調に発育した (図 1)。それら産仔は兄妹交配にて次世代を産生し、雌雄全てのマウスの生殖能が正常であることが確認された。これら顕微授精実験の成功率は *in vivo* に由来する精子細胞や精子を使った結果と比較して劣らないものであった (論文⑥)。

さらに精巣組織の凍結保存を試みた。汎用されている細胞凍結保護液 (TC-Protector) に精巣組織を浸漬し -70°C 内に一晩置いた後に液体窒素へ移して保存した。液体窒素内で 4~25 日間凍結保存した後に、室温で解冻し器官培養を開始した。*Acr*-GFP、*Gsg2*-GFP ともに発現がみられ、円形精子細胞や伸長精子細胞が観察された。このことは本来個体が持つ生殖能力を精巣組織片という形で半永久的に保存できることを意味している (図 1)。現在、精子の凍結保存は、抗癌剤治療や放射線治療の前に癌患者の妊孕性を保存するために広く行われている。しかし、男児小児癌患者の場合は、精子形成が始まっておらず精子を凍結保存することができない。凍結保存した精巣組織を器官培養することで精子形

### 器官培養法によるマウス精子産生

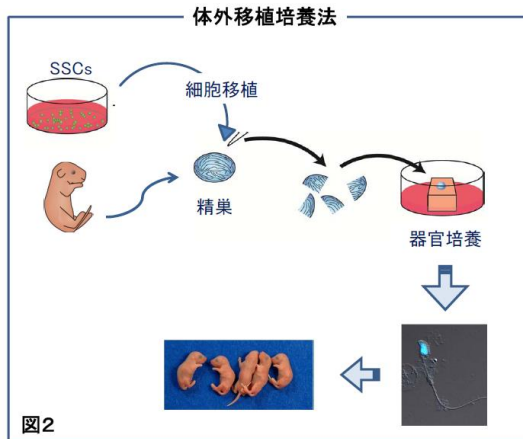


成ができれば、小児癌患者における妊孕性の保存が可能となり臨床的な意義は大きいと思われる。

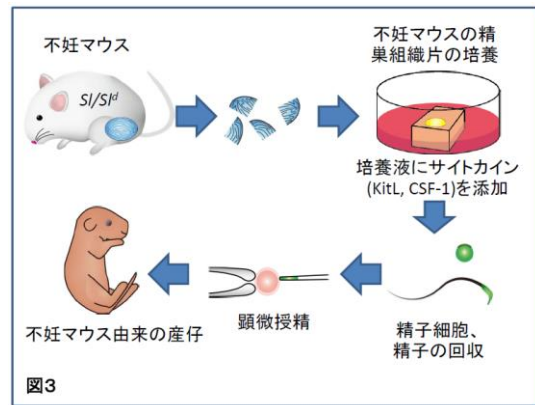
次に培養下で増殖させたマウス SSC を *in vitro* で精子にする方法を考案した。SSC は、組織学的な存在部位、細胞や核の形態、発現遺伝子プロファイルといった付随的な情報だけで同定することは妥当ではなく、その自己複製能と分化能を検定する機能的同定が重要である。1994 年に Ralph L. Brinster によって開発された精原細胞移植法は、SSC の機能的アッセイ法として利用されてきた。そして 2003 年に篠原らによってマウス SSC を *in vitro* で指数関数的に増殖される培養方法が開発された。この細胞は germline stem

cell (GS 細胞) と名付けられ、精細管内に移植すると精子形成から精子産生に至った。我々はこの GS 細胞を *in vitro* で精子に分化させるべく、体外移植培養法を開発した。まず宿主精巣を未熟マウスから採取し、そこに GS 細胞を注入移植する。その精巣の組織片を器官培養することによって精子形成を誘導するものである (図 2)。注入された GS 細胞は精細管の基底膜上 (ニッチ) に定着し、増殖と分化を開始した。減数分裂も確認され、少数ながら円形精子細胞や精子も認められた。さらには顕微授精によって産仔を得ることも成功した。また孫世代も誕生し生殖能が正常であることも確認できた (論文⑤)。

この方法を応用して精子形成不全の治療を試みた。精巣内環境が異常なために無精子症になっている代表的な不妊モデルマウス ( $Sl/Sl^d$ ) の精巣細胞 (精子幹細胞を含む) を正常マウスの精巣に注入移植してその組織片を器官培養したところ、精子形成を誘導できることが確認できた (論文⑤)。



さらに  $Sl/Sl^d$  マウスの精巣組織自体を器官培養し、精子形成を誘導させる試みの実験を行った。 $Sl/Sl^d$  マウスは、セルトリ細胞が発現する c-kit ligand (KITL、別名：幹細胞因子) に欠損があり膜結合型 KITL を作る事ができない。KITL は精子形成に必須であり、特に膜結合型 KITL が無い  $Sl/Sl^d$  マウスの精巣内には未熟な精原細胞がわずかに存在するのみで精子形成は全く見られない。このマウスの精巣組織片を器官培養するにあたり組換え体 KITL を培養液に添加し精巣内環境の正常化を試みた。その結果、減数分裂までの分化を認めた。さらに KITL に加えて CSF-1 を添加したところ精子産生を認め、顕微授精により産仔を得ることも成功した。その仔マウスは正常に成長し自然交配にて孫世代の子孫も誕生させることができた (論文②) (図 3)。これらの結果は、精巣内環境異常により精子形成不全となっている不妊症の場合には、その精巣組織を適切な条件で培養することにより、精子産生できる可能性があることを示すものである。現段階で



は、ヒトの精巣組織の培養自体が難しいため、この技術をそのままヒトへ適用することはできないが、将来的に不妊治療への道筋を示したことは非常に意義深いものと考えられる。

## 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 11 件)

- ① T. Yokonishi, T. Sato, K. Katagiri, \*T. Ogawa: *In vitro* spermatogenesis using an organ culture technique. *Methods Mol Biol.* 927: 479-488 (2013). 査読なし
- ② T. Sato, T. Yokonishi, M. Komeya, K. Katagiri, Y. Kubota, S. Matoba, N. Ogonuki, A. Ogura, S. Yoshida, \*T. Ogawa: Testis tissue explantation cures spermatogenic failure in c-Kit ligand mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109: 16934-16938 (2012) DOI: 10.1073/pnas.1211845109. 査読あり
- ③ K. Tokuishi, SI. Yamashita, K. Ohbo and K. Kawahara. Splice variant HE4-V3 expression is associated with favorable prognosis in pulmonary adenocarcinoma *Tumour Biol.* 33:103-109. (2012) doi: 10.1007/s13277-011-0252-8 査読あり
- ④ SI. Yamashita, K. Tokuishi, T. Moroga, S. Yamamoto, K. Ohbo, S. Miyahara, Y. Yoshida, J. Yanagisawa, D. Hamatake, M. Hiratsuka, Y. Yoshinaga, T. Shiraishi, A. Iwasaki and K. Kawahara. Serum level of HE4 is closely associated with pulmonary adenocarcinoma progression. *Tumour Biol.* 33:2365-2370. (2012) doi: 10.1007/s13277-012-0499-8 査読あり
- ⑤ T. Sato, K. Katagiri, T. Yokonishi, Y. Kubota, K. Inoue, N. Ogonuki, S. Matoba, A. Ogura, \*T. Ogawa: *In vitro* production of fertile sperm from murine spermatogonial stem cell lines. *Nat*

- Commun. 2: 472 (2011). doi: 10.1038/ncomms1478. 査読あり
- ⑥ T. Sato, K. Katagiri, A. Gohbara, K. Inoue, N. Ogonuki, A. Ogura, Y. Kubota, \*T. Ogawa: *In vitro* production of functional sperm in cultured neonatal mouse testes. Nature 471: 504-507 (2011) doi:10.1038/nature09850 査読あり
- ⑦ Y. Takada Y, C. Naruse, Y. Costa, T. Shirakawa, M. Tachibana, J. Sharif, F. Kezuka-Shiotani, D. Kakiuchi, H. Masumoto, Y. Shinkai, K. Ohbo, A. H.F.M. Peters, J. A.M. Turner, M. Asano and K. Koseki. HPIg links histone methylation marks to meiotic synapsis in mice Development, 138:4207-4217. (2011) doi: 10.1242/dev.064444 査読あり
- ⑧ Y. Araki, T. Sato, K. Katagiri, Y. Kubota, Y. Araki, \*T. Ogawa: Proliferation of Mouse Spermatogonial Stem Cells in Microdrop Culture. Biol Reprod. 83: 951-957, (2010) doi: 10.1095/biolreprod.109.082800 査読あり
- ⑨ A. Gohbara, K. Katagiri, T. Sato, Y. Kubota, H. Kagechika, Y. Araki, Y. Araki, \*T. Ogawa: In Vitro Murine Spermatogenesis in an Organ Culture System. Biol Reprod. 83: 261-267 (2010) doi: 10.1095/biolreprod.110.083899 査読あり
- ⑩ T. Watanabe, H. Hayashi, K. Kita, Y. Kubota, \*T. Ogawa: Ectopic porcine spermatogenesis in murine subcutis: tissue grafting versus cell-injection methods. Asian J Androl. 11, 317-323 (2009). 査読あり
- ⑪ Glaser S., Lubitz S., Loveland KL., \_ Ohbo K., Robb L., Schwenk F., Seibler J., Roellig D, Kranz A., Anastassiadis K. and Stewart AF. : The histone3 lysine 4 methyltransferase, Mll2, is only required briefly in development and spermatogenesis Epigenetics & Chromatin 2:5 (2009).doi: 10.1186/1756-8935-2-5 査読あり

[学会発表] (計 42 件)

- ① 小川毅彦: 「精子形成研究の変遷と展望」第101回日本泌尿器科学会総会 特別講演 平成25年4月28日 さっぽろ芸術文化の館 (北海道)
- ② 小川毅彦: 「無精子症治療の新たな展開ーヒト精細胞培養法の開発」第101回日本泌尿器科学会総会 シンポジウム5 新しい治療戦略シリーズ 男性不妊症診療の新たな

戦略 平成25年4月28日 ロイトン札幌 (北海道)

③ T. Ogawa: In vitro reconstruction of functional mouse seminiferous tubules supporting germ cell differentiation 培養下での精巣組織再構成の試み、第90回日本生理学会大会 平成25年3月29日 タワーホール船堀 (東京)

④ T. Ogawa: In vitro reconstruction of functional testicular tissues supporting spermatogenesis, 日本再生医療学会 Johnson & Johnson Innovation Award 受賞講演 平成25年3月22日 パシフィコ横浜 (神奈川県)

⑤ T. Ogawa: In vitro spermatogenesis using an organ culture method. Australia Melbourne 10th International Congress of Andrology 10th International Congress of Andrology, 23-26 February 2013, Melbourne, Australia

⑥ T. Ogawa: 「Induction of spermatogenesis in testis of c-Kit ligand mutant spermatogenic failure mice using Organ Culture method」 63rd Congress of Korean Society for Reproductive Medicine December 1st, 2012, Seoul Women's University (Korea)

⑦ 小川毅彦: 精巣組織培養法は無精子症を治療できるか シンポジウム2 「無精子症の取り扱いに関する問題と展望」平成24年11月8日(木) 日本生殖医学会学術講演会 長崎ブリックホール (長崎県)

⑧ T. Ogawa: In vitro spermatogenesis using an organ culture method. Meeting GDRI "Mammalian Meiosis Network" October 11-12th, 2012, La Maison du Séminaire, Nice, France.

⑨ 小川毅彦: 「精子幹細胞からの培養下精子形成」日本受精着床学会シンポジウム「基礎(1)精子幹細胞のバイオロジーとその応用」平成24年8月30日(木) 大阪国際会議場 (大阪府)

⑩ K. Ohbo, T. Shirakawa and H. Koseki. : Changing epigenetic modification and chromocenter formation associating with spermatogonia differentiation. 10<sup>th</sup>. EMBL Conference, Transcription and Chromatin, 26, August, 2012 Heidelberg, Germany

⑪ T. Ogawa: In vitro spermatogenesis using an organ culture method. The 58/60th NIBB symposium, Okazaki, (Aichi prefecture) Japan, 21st July, 2012

⑫ K. Ohbo: The 58<sup>th</sup>/60<sup>th</sup> NIBB Conference, Germline Specification, Sex, and Stem Cells. "Analysis of epigenetic changes associated with spermatogonia stem cell differentiation. 19, July, 2012, Okazaki, (Aichi prefecture) Japan

⑬ T. Ogawa: State-of-the-Art Lecture 1 "Testicular tissue culturing inducing complete spermatogenesis" The 7th AUA/JUA international affiliate society meeting, May 20, 2012, Georgia World Congress Center, Atlanta

⑭ 小川毅彦: 「In vitro 精子形成法の開発と不妊症診療への応用の可能性」 第100回日本泌尿器科学会総会 SY2-5 「男性不妊症に対する新たな挑戦」平成24年4月22日 パシフィコ横浜 (神奈川県)

⑮ 小川毅彦: 「器官培養法を用いた in vitro 精子形成法の開発」 第20回平成不妊研究会 平成24年3月15日 六本木・アカデミーヒルズ (東京都)

⑯ K. Ohbo, T. Shirakawa, R. Yaman-Deveci, Y. Kamizato, K. Nakajima, H. Sone, Y. Sato, S. Jafar, Y. Takada-Horisawa, S. Yoshida, K. Ura, M. Muto and H. Koseki. :Analysis of epigenetic feature of spermatogonial stem cells in mice. Keystone Symposia, Epigenomics, Chromatin Dynamics. 19, January, 2012, Colorado, USA.

⑰ 小川毅彦: 器官培養法を用いた in vitro 精子形成法の開発 第26回動物生殖工学会 平成23年12月4日 北里大学・北里本館 2F 大会議室 (東京都)

⑱ 小川毅彦: In vitro 精子形成法の開発と臨床応用の可能性 第3回生殖補助医療胚培養士セミナー 2011年11月13日 JA 共済ビル (東京都)

⑲ 小川毅彦: 器官培養法を用いた精子形成法の開発と臨床応用の可能性 第2回生殖医療研究会 平成23年11月6日 国際医療福祉大学 東京青山キャンパス (東京都)

⑳ 小川毅彦: 器官培養法を用いた in vitro 精子形成法の開発と発展 第89回発生工

学・疾患モデル研究会 平成23年10月26日 順天堂大学10号館8F803 (東京都)

㉑ 小川毅彦: 器官培養法による in vitro 精子形成と臨床応用の可能性 第76回日本泌尿器科学会東部総会 シンポジウム 平成23年10月22日 パシフィコ横浜(神奈川県)

㉒ T. Ogawa: In vitro spermatogenesis. 57th Annual meeting of Canadian Fertility and Andrology Society, 21st Sept. 2011, Toronto, Canada

㉓ 小川毅彦: マウス精巢の器官培養による in vitro 精子形成 第104回日本繁殖学会シンポジウム「精原幹細胞: 基礎から応用まで」平成23年9月17日 いわて県民情報交流センター・アイーナ (岩手県)

㉔ T. Shirakawa, R. Yaman-Deveci, Y. Kamizato, K. Nakajima, H. Sone, Y. Sato, S. Jafar, Y. Takada-Horisawa, S. Yoshida, K. Ura, M. Muto, H. Koseki, T. Suda and K. Ohbo: Identification of an epigenetic checkpoint that controls the differentiation from spermatogonial stem cells to progenitor cells, Stem Cells in Development and Disease, 12th, Sept., 2011, Berlin, Germany

㉕ T. Ogawa: In vitro production of functional sperm in cultured neonatal mouse testes 16th World Congress on In vitro Fertilization & 5th World Congress on In vitro Maturation. 13<sup>th</sup>, Sep., 2011 Keio Plaza (Tokyo), Japan.

㉖ K. Ohbo. An epigenetic checkpoint controls the transition from a stem cell pool to a progenitor cell stage in testes. EMBO Conference Series on Chromatin and Epigenetics. 4, June, 2011, EMBL, Heidelberg, Germany

㉗ 小川毅彦、佐藤卓也、横西哲広、郷原絢子、河路かおる、窪田吉信 「器官培養法を用いた新生仔マウス精巢での in vitro 精子産生」ポスター発表 総会賞受賞 第99回日本泌尿器科学会総会 2011年4月22日 名古屋国際会議場 (愛知県)

㉘ 小川毅彦: 「in vitro 精子形成の進展」 第6回 日本生殖再生医学会、2011年3月13日 (日) シェーンバッハ・サボー (東京都)

㉙ 小川毅彦: 「精子幹細胞の培養と in vitro 精子形成の進展」 第55回日本生殖医学会総

会/シンポジウム 3「精子形成研究のあらたなるフロンティア：幹細胞から精子の品質まで」2010年11月12日 徳島市あわぎんホール（徳島県）

③⑩ T. Ogawa, T. Sato, K. Katagiri, Y. Kubota: "In vitro production of functional sperm in cultured neonatal mouse testes." Cold Spring Harbor Symposium on Germ Cells, 2010/10/08, NewYork, USA.

③⑪ K. Ohbo: Epigenetic difference between stem cells and progenitor cells in testes, Advances in Epigenetics Epigenome NoE and Chromatin Plasticity, 13, May, 2010, San Feliu deGuixols, France

③⑫ 大保和之, 白川峰征、中島久仁子: エピジェネティクスの視点から見た、精巣幹細胞維持と前駆細胞への分化メカニズム第115回日本解剖学会総会、2010年3月30日、盛岡・岩手県民会館（岩手県）

③⑬ 佐藤卓也、片桐久美子、窪田吉信、小川毅彦: 培養精子幹細胞 (GS 細胞) への効率的な遺伝子導入 第5回日本生殖再生医学学会学術集会 2010年2月21日 シェーンバッハ・サボー（東京都）

③⑭ 小川毅彦、佐藤卓也、片桐久美子、窪田吉信、荒木泰行、荒木康久: 「精原幹細胞と精子形成」第13回 RMB 研究会シンポジウム 平2010年1月23日 持田製薬株式会社「ルークホール」(東京都)

③⑮ 小川毅彦、荒木泰行、荒木康久: 「マウス精子幹細胞のマイクロドロップ培養下での増殖動態」第41回精子研究会 2009年12月19日 東京大学 駒場キャンパス 16号館 119-129室（東京都）

③⑯ 小川毅彦: 「精子幹細胞の培養と精子形成」第14回日本生殖内分泌学会学術集会シンポジウムー生殖臓器由来幹細胞研究の最前線 2009年11月28日 シェーンバッハ・サボー（東京都）

③⑰ Shikarawa T, Ura K, Yoshida S, Ohbo K.: Difference of epigenetic modifications between self-renewing tissue-specific stem cells and progenitor cells in mouse testes. EMBO Conference Series on Nuclear Structure and Dynamics. 3, October, 2009, Isle sur la Sorgue, France

③⑱ 小川毅彦: 「in vitro にもニッチはあるか？」第80回 日本動物学会・シンポジウム「配偶子幹細胞制御に関する研究の新展開」2009年9月17日 静岡グランシップ（静岡県）

③⑲ Shirakawa T, Ohbo K.: Dynamic epigenetic changes in differentiation step from spermatogonial stem cells to progenitor cells. Gordon Research Conferences Mammalian Gametogenesis & Embryogenesis, 3, August, 2009, Waterville Valley, NH, USA

④⑰ T. Ogawa, K. Katagiri, Y. Araki, Y. Araki, Y. Kubota: In vitro murine spermatogenesis in an organ culture system. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), 1<sup>st</sup> July, 2009, Amsterdam, Nederland.

④⑱ 大保和之: 精巣幹細胞特異的発現分子により可視化された幹細胞のゲノム修飾動態。シンポジウム「生殖系細胞の機能発現とイメージング」第114回日本解剖学会総会・全国学術総会 2009年3月28日、岡山理科大学（岡山県）

④⑳ 大保和之: 精巣幹細胞から前駆細胞への分化に伴う遺伝子発現制御機構の変化. SSRE 生殖工学研究会シンポジウム「生殖幹細胞の分化制御機構」2009年3月7日 明治大学駿河台校舎（東京都）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~urology/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小川 毅彦 (OGAWA TAKEHIKO)

横浜市立大学・医学研究科・准教授

研究者番号：50254222

### (2) 研究分担者

大保 和之 (OHBO KAZUYUKI)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：70250751

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：