

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05482

研究課題名(和文) 多能性幹細胞を用いた内耳有毛細胞の創生から細胞移植治療へ

研究課題名(英文) Generation of inner ear hair cells toward cell transplantation using pluripotent stem cells

研究代表者

吉川 正英 (Yoshikawa, Masahide)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：50230701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳動物の聴覚細胞の自己再生能力は極めて乏しく、それらに分化し得る幹細胞の補充は代替治療となる可能性がある。そこで本研究では、多能性幹細胞より内耳有毛細胞の効率的な*in vitro*作成の開発と分化メカニズムの解明、細胞移植による聴覚再生を検討した。ES細胞から内耳有毛細胞への分化誘導因子として内耳内在細胞由来の分泌因子を利用した新規誘導法を開発し、分化制御を司る候補因子を特定することができた。更に、単離した内耳器官への細胞定着を認め、細胞移植による内耳治療の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難聴治療の鍵となる内耳有毛細胞に着目し、様々な細胞に分化可能な多能性幹細胞から効率良く誘導する方法を開発した。本法は、これまでの方法に比べ簡便かつ高効率である。内耳細胞の再生研究および細胞移植治療に用いる細胞源確保に十分貢献できる成果である。本研究で開発した手法を、臨床応用が開始されたヒトiPS細胞へ適応することで、今後の耳科領域における研究を更に発展させる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The self-renewal capability of inner ear hair cells in mammals is extremely poor, thus stem cells harboring an ability to generate inner ear hair cells is a promising treatment option for damaged inner ear hair cells. We have successfully developed a new method for *in vitro* production of inner ear hair cells from pluripotent stem cells. In the present study, the mechanism of differentiation and possibility of cell transplantation using isolated cochlea tissue samples were investigated. The results showed that secretory factors related to resident cells in the inner ear facilitated differentiation of stem cells into inner ear hair cells, with several candidates determined based on RNA-sequence analysis. In addition, analysis of the co-culture with embryonic stem cell-derived inner ear hair cells and isolated cochlea tissues revealed cell settlement in the cochlea, suggesting the applicability of this *in vivo* method for cell transplantation therapy.

研究分野：再生医学

キーワード：内耳 再生医学 有毛細胞 幹細胞 耳科学 分化誘導 細胞培養 聴覚再生

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

感音性難聴の多くは内耳有毛細胞の障害に起因する。近年、分子生物学的アプローチにより有毛細胞の分化と発生に関する報告が散見されるが、聴覚の機能再生を試みた研究報告は極めて少ない。そこで我々は、『有毛細胞の分化』に着目し、マウス ES 細胞から効率的な *in vitro* 分化誘導を試みた。補助細胞 ST2 を使用した簡便かつ高効率な分化誘導法 (Hair cell Induction method using ST2-CM : HIST2 method) を開発し、更に、遺伝子導入による効率的分化誘導にも成功した。これらの背景のもと、我々は、独自に開発した分化誘導法により得られた ES 由来有毛細胞様細胞を試験的に難聴マウス内耳へ細胞移植したところ、蝸牛内の正位置に定着することが確認された。このことより、我々は、細胞移植により聴覚機能を改善させ得る可能性を強く確信した。しかし、内耳有毛細胞の効率的分化誘導と細胞移植法の開発には、一層精緻かつ系統的研究が必要と考え、多能性幹細胞の分化状態を可視化可能な細胞株を用いて *in vitro* で効率的分化誘導とそのメカニズムを解析し、内耳器官への移植を行うことで聴覚機能再生の実現化を目指す本研究に着手することとした。

2. 研究の目的

本研究計画では、多能性幹細胞（胚性幹細胞）から有毛細胞を創生し、分化誘導した有毛細胞の特性解析および分化誘導メカニズムの解明と、細胞移植におけるホスト組織・細胞との相互作用解析を中心に内耳性難聴治療の基盤開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス ES 細胞を用いた内耳有毛細胞への分化誘導

転写因子 *Math1* を Tet-On システムにより発現制御可能な ES 細胞 (Tet-*Math1* ES 細胞) を用いて、我々が開発した分化誘導法 (HIST2 法) (Ouji et.al., *Cell Death Dis.*, 2012) と組み合わせ、有毛細胞への分化誘導を行った。各種条件下、リアルタイム RT-PCR、細胞免疫染色等により最適条件を評価した。

(2) 内耳有毛細胞分化誘導の可視化

転写因子 *Math1* の発現と連動して *GFP* を発現する ES 細胞株 (*Math1-GFP* ES 細胞) を用いて、有毛細胞への効率的分化誘導法をスクリーニングした。培養液、添加因子、共培養あるいは培養環境を組み合わせることで最適条件を検討し、最も効率的な分化誘導条件を検討し、リアルタイム RT-PCR、フローサイトメトリー、細胞免疫染色等により評価した。

(3) 内耳組織・細胞の単離と分化誘導への影響

マウス内耳より蝸牛あるいは前庭を単離し、細胞培養を行った。継代培養可能な細胞株を樹立し、培養上清を回収後、*Math1-GFP* ES 細胞を用いて分化誘導への影響を精査した。各種条件下、リアルタイム RT-PCR、細胞免疫染色等によりスクリーニングを行うことで、最適条件を探った。さらに、分化誘導因子を特定するため、蝸牛・前庭細胞より抽出した total RNA を用いて RNA-seq による解析を行った。

(4) マウス内耳器官と ES 由来有毛細胞との共培養実験

マウス内耳より単離した蝸牛および卵形嚢を培養し、ES 細胞から分化誘導させた有毛細胞と共培養することで、細胞の生着・相互作用を細胞免疫染色等で精査した。

4. 研究成果

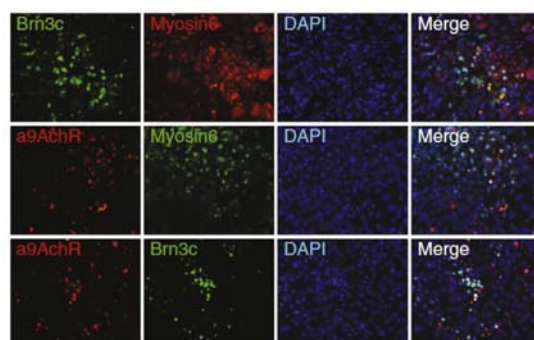
(1) マウス ES 細胞を用いた内耳有毛細胞への分化誘導

Tet-*Math1* ES 細胞を用いて *Math1* の強制発現を誘導し、且つ、ST2 細胞株の培養上清 (HIST2 法) を組み合わせることで、有毛細胞への効率的分化誘導を試みた。その結果、各種有毛細胞マーカーは、*Math1* 発現誘導と HIST2 法を組み合わせた場合、最も発現が亢進した (図 1: 免疫染色の成績)。また、蝸牛・前庭有毛細胞特異的マーカーによる解析では、分化誘導法による偏移を認めた。

(2) 内耳有毛細胞分化誘導の可視化

Math1-GFP ES 細胞を用いて、これまでに得られている最適条件により、分化誘導効率の確認を行った。培養液、添加因子、共培養あるいは

図 1



培養環境を組み合わせることで最適条件を再検討し、最も効率的な分化誘導条件を見出した。共培養系と組み合わせることにより、飛躍的に誘導効率が充進し、フローサイトメトリーの成績からも、個々の細胞レベルでの分化誘導が充進していることを実証することができた。

(3) 内耳組織・細胞の単離と分化誘導への影響

マウス蝸牛あるいは前庭細胞を単離し、継代培養を行った。各細胞由来の培養上清を回収し、分化誘導における影響を調べた結果、ES細胞から有毛細胞への分化誘導には、宿主由来細胞からの分泌因子が関与していることが明らかとなった(図2: V-CM)。また、蝸牛あるいは前庭細胞由来の培養上清を用いた分化誘導において、内耳細胞への誘導プロセスが異なっており、支持細胞や神経細胞等を含めた種々の内耳関連細胞への分化誘導制御の可能性が示唆された。

さらに、培養上清を用いた有毛細胞への分化誘導法における分化誘導因子の特定を図った。蝸牛あるいは前庭由来の細胞を単離し、RNA-seqによる遺伝子発現の違いに着目した解析を行った(図3)。その結果、蝸牛・前庭由来細胞で優位に高発現する因子を、それぞれ20種程度特定することができ、これらの因子による分化誘導制御の可能性が示唆された。

(4) マウス内耳器官とES由来有毛細胞との共培養実験

マウス内耳より単離した蝸牛器官を用いた培養実験では、ES細胞から分化誘導させた蝸牛有毛細胞を単離蝸牛と共に培養したところ、細胞の生着や蝸牛組織とのコンタクト(聴神経細胞など)を認めた。カナマイシン処理した単離蝸牛との共培養では、生着細胞数の増加が観察され、損傷蝸牛における細胞移植では生着率も増すことが明らかとなった。

図2

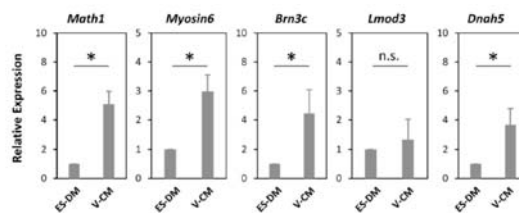
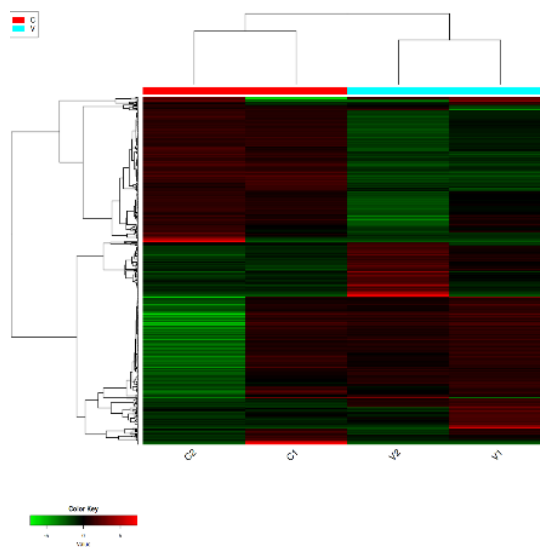


図3



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sakagami M, Ouji Y, Kawai N, Misu M, Yoshikawa M, Kitahara T.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Differentiation of embryonic stem cells into inner ear vestibular hair cells using vestibular cell derived-conditioned medium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Rep.	6. 最初と最後の頁 100649
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2019.100649	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 吉川正英	4. 巻 33
2. 論文標題 ここまで進んだ再生医学 多能性幹細胞から内耳有毛細胞への分化誘導法も含めて	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科ニューロサイエンス	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Kawai N, Ouji Y, Sakagami M, Tojo T, Sawabata N, Yoshikawa M, Taniguchi S.	4. 巻 45
2. 論文標題 Isolation and culture of pleural mesothelial cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Exp Lung Res	6. 最初と最後の頁 151-156
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/01902148.2018.1511002	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 Kawai N, Suzuki S, Yamashita K, Niwa K, Tojo T, Sawabata N, Nakai T, Ouji Y, Yoshikawa M, Ikada Y, Taniguchi S	4. 巻 70
2. 論文標題 Effectiveness of cross-linked gelatin glue in canine lung surgery models	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Nara Med Assoc	6. 最初と最後の頁 35-43
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Kawai N, Suzuki S, O uji Y, Takeda M, Sakagami M, Tojo T, Sawabata N, Yoshikawa M, Ikada Y, Taniguchi S.	4. 巻 ivy297
2. 論文標題 Effect of covering with cross-linked gelatin glue on tissue regeneration in a rat lung injury model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Interact Cardiovasc Thorac Surg.	6. 最初と最後の頁 eCollection
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/icvts/ivy297	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 Kawai N, O uji Y, Sakagami M, Tojo T, Sawabata N, Yoshikawa M, Taniguchi S.	4. 巻 15
2. 論文標題 Induction of lung-like cells from mouse embryonic stem cells by decellularized lung matrix.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Rep.	6. 最初と最後の頁 733-738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2018.06.005. eCollection 2018 Sep.	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 Hirai N, Kasahara K, Fujikura H, Yoshihara S, Ogawa T, Ogawa Y, Hishiya N, Suzuki Y, Nakano R, Yano H, Yoshikawa M, Mikasa K.	4. 巻 24
2. 論文標題 Molecular diagnosis and characterization of a culture-negative mycotic aneurysm due to ST54 Haemophilus influenzae type b with PBP 3 alterations.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Infect Chemother.	6. 最初と最後の頁 570-572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2017.12.013	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 O uji Y, Sakagami M, Omori H, Higashiyama S, Kawai N, Kitahara T, Wanaka A, Yoshikawa M.	4. 巻 23
2. 論文標題 Efficient induction of inner ear hair cell-like cells from mouse ES cells using combination of Math1 transfection and conditioned medium from ST2 stromal cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Stem Cell Res	6. 最初と最後の頁 50-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scr.2017.06.013.	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 Yoshikawa M, O uji Y, Hirai N, Nakamura-Uchiyama F, Yamada M, Arizono N, Akamatsu N, Yoh T, Kaya D, Nakatani T, Kikuchi E, Katanami Y, Satoh K, Maki R, Miyazato Y, Oba Y, Kasahara K, Mikasa K.	4. 巻 46
2. 論文標題 Ancylostoma ceylanicum, novel etiological agent for traveler's diarrhea-report of four Japanese patients who returned from Southeast Asia and Papua New Guinea.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Trop Med Health	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41182-018-0087-8.	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 Tsuchido Y, Nakamura-Uchiyama F, Toyoda K, Iwagami M, Tochtani K, Shinohara K, Hishiya N, Ogawa T, Uno K, Kasahara K, O uji Y, Kano S, Mikasa K, Shimizu T, Yoshikawa M, Maruyama H.	4. 巻 96
2. 論文標題 Development of Delayed Hemolytic Anemia after Treatment with Oral Artemether-Lumefantrine in Two Patients with Severe Falciparum Malaria.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Am J Trop Med Hyg	6. 最初と最後の頁 1185-1189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4269/ajtmh.16-0460.	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 Marutani A, Nakamura M, Nishimura F, Nakazawa T, Matsuda R, Hironaka Y, Nakagawa I, Tamura K, Takeshima Y, Motoyama Y, Boku E, O uji Y, Yoshikawa M, Nakase H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Tumor-inhibition effect of levetiracetam in combination with temozolomide in glioblastoma cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neurochem J	6. 最初と最後の頁 43-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Nakazawa T, Nakamura M, Matsuda R, Nishimura F, Park YS, Motoyama Y, Hironaka Y, Nakagawa I, Yokota H, Yamada S, Tamura K, Takeshima Y, Omoto K, Tanaka Y, O uji Y, Yoshikawa M, Tsujimura T, Nakase H.	4. 巻 129
2. 論文標題 Antitumor effects of minodronate, a third-generation nitrogen-containing bisphosphonate, in synergy with T cells in human glioblastoma in vitro and in vivo.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Neurooncol	6. 最初と最後の頁 231-241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11060-016-2186-x	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 Kaya D, Yoshikawa M, Nakatani T, Tomo-Oka F, Fujimoto Y, Ishida K, Fujinaga Y, Aihara Y, Nagamatsu S, Matsuo E, Tokoro M, Ouji Y, Kikuchi E.	4. 巻 65
2. 論文標題 Ancylostoma ceylanicum hookworm infection in Japanese traveler who presented chronic diarrhea after return from Lao People's Democratic Republic.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Parasitol Int.	6. 最初と最後の頁 737-740
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2016.07.001	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16件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 阪上雅治、王寺幸輝、河合紀和、吉川正英、北原紘
2. 発表標題 卵形嚢由来細胞を用いたES細胞から内耳前庭有毛細胞への分化誘導法の開発
3. 学会等名 第19回 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阪上雅治、吉川正英、北原紘
2. 発表標題 ES細胞から内耳前庭有毛細胞への効率的分化誘導法の開発
3. 学会等名 第28回日本耳科学会 総会・学術講演
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井口直彦、形岡博史、正嶋良悟、桐山敬生、吉川正英、杉江和馬
2. 発表標題 脊髄炎で発症し肺肝病変を伴ったトキシカラ症の1例
3. 学会等名 第23回日本神経感染症学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ouji Y, Kawai N, Sakagami M, Yoshikawa M.
2. 発表標題 Characterization of murine hair follicle stem cells under long-term culture conditions
3. 学会等名 16th International Society for Stem Cell Research Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakagami M, Ouji Y, Kawai N, Kitahara T, Yoshikawa M.
2. 発表標題 Differentiation of mouse embryonic stem cells into inner ear cell-like cells using vestibular cell-conditioned medium.
3. 学会等名 16th International Society for Stem Cell Research Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤松尚明、吉川正英、山田稔、楊孝治、平位暢康、王寺幸輝、有園直樹
2. 発表標題 消化管に一隻のイヌ鉤虫が発見された日本在住のブラジル人症例
3. 学会等名 第29回 日本臨床寄生虫学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakagami M, Ouji Y, Kawai N, Kitahara T, Yoshikawa M.
2. 発表標題 Effects of vestibular cell-conditioned medium on differentiation of embryonic stem cells into inner ear vestibular hair cells
3. 学会等名 41st Annual MidWinter Meeting, Association for research in otolaryngology (ARO) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阪上雅治、吉川正英、北原紘
2. 発表標題 ES細胞から分化誘導した内耳有毛細胞のキャラクタリゼーション
3. 学会等名 第27回 日本耳科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 王寺幸輝、河合紀和、阪上雅治、吉川正英
2. 発表標題 長期培養維持した毛包上皮幹細胞のキャラクタリゼーション
3. 学会等名 第17回 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ouji Y, Sakagami M, Kawai N, Yoshikawa M.
2. 発表標題 Maintenance and long-term expansion of murine skin epithelial stem cells by Wnt signaling pathway
3. 学会等名 10th World Congress for Hair Research 2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉川正英、王寺幸輝、中村一内山ふくみ、有園直樹、山田稔、赤松尚明、賀屋大介、片浪雄一、眞木良祐、大場雄一郎
2. 発表標題 セイロン鉤虫症は海外渡航時に注意すべき感染症であるー日本人4症例の検討ー
3. 学会等名 第58回 日本熱帯医学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 赤松尚明、山田稔、有菌直樹、楊孝治、王寺幸輝、吉川正英
2. 発表標題 2009年にマレーシアにて感染したセイロン鉤虫症例 海外感染した日本人の同症第一確定例
3. 学会等名 第28回 日本臨床寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平位暢康、吉川正英、中村ふくみ、王寺幸輝、今井雄一郎、藤倉裕之、吉井誠也、吉原真吾、今北菜津子、小川拓、小川吉彦、米川真輔、平田一記、菱矢直邦、梶田明裕、白石直敬、佐藤公俊、福森達也、辻本和徳、中川智代、宇野健司、笠原敬、前田光一、古西満、武山雅博、大西智子、片浪雄一、忽那賢志、三笠桂一
2. 発表標題 奈良医大感染症センター寄生虫専門外来10年の経験
3. 学会等名 第28回 日本臨床寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 阪上雅治、王寺幸輝、河合紀和、北原胤、吉川正英
2. 発表標題 ES細胞から分化誘導した内耳有毛細胞のキャラクタリゼーション
3. 学会等名 第16回 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 王寺幸輝、河合紀和、阪上雅治、三須政康、吉川正英
2. 発表標題 皮膚上皮幹細胞の長期培養条件の検討とWntシグナル
3. 学会等名 第16回 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河合紀和、王寺幸輝、阪上雅治、東条尚、谷口繁樹、吉川正英
2. 発表標題 無細胞化マトリックスを用いたES細胞から肺細胞への効率的分化誘導法の開発
3. 学会等名 第16回 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 吉川正英、沢田敦、間瀬史絵、平位暢康、大西智子、武山雅博、笠原敬、王寺幸輝	4. 発行年 2018年
2. 出版社 金原出版	5. 総ページ数 14
3. 書名 小児科、小児寄生虫感染症の対策・予防	

1. 著者名 王寺幸輝、吉川正英	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Medical Technology	5. 総ページ数 6
3. 書名 日常検査で役立つ寄生虫・原虫検出法 抗原・抗体反応を利用した寄生虫検査	

1. 著者名 Yoshikawa M, O uji Y.	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Methods Mol Biol	5. 総ページ数 11
3. 書名 Induction of Inner Ear Hair Cells from Mouse Embryonic Stem Cells In Vitro.	

1. 著者名 Ouji Y, Yoshikawa M.	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Methods Mol Biol	5. 総ページ数 10
3. 書名 Maintenance of Skin Epithelial Stem Cells by Wnt-3a In Vitro.	

1. 著者名 Ouji Y, Yoshikawa M.	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Methods Mol Biol	5. 総ページ数 9
3. 書名 Maintenance of Dermal Papilla Cells by Wnt-10b In Vitro.	

〔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	北原 紘 (Kitahara Tadashi) (30343255)	奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601)	
研究分担者	和中 明生 (Wanaka Akio) (90210989)	奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601)	
研究分担者	王寺 幸輝 (Ouji Yukiteru) (50343421)	奈良県立医科大学・医学部・准教授 (24601)	