

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15128

研究課題名（和文）タンデム型2ポアカリウムチャンネル作用薬超高効率探索システムの創成

研究課題名（英文）Generation of a novel cell-based assay system for screening agents specific to two-pore domain K<sup>+</sup> channels

研究代表者

今泉 祐治 (Imaizumi, Yuji)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：60117794

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、イオンチャンネル標的創薬のための大規模高効率探索法の開発・実用化を目的とした。申請者らが独自に確立した独自のセルベースアッセイ系「1発の活動電位発生により確実に死ぬ細胞（PCT/JP2011/064967）」に対して、低濃度Ba<sup>2+</sup>を投与することで活動電位をより簡便に誘発する手法を開発した（特願2016-214685）。創薬標的チャンネルとして様々な疾患発症に関わる2ポアドメインK<sup>+</sup>（K2P）チャンネルを選択した。K2Pチャンネルを上述の細胞に発現させたところ、K2Pチャンネルの活性変化を細胞の生死で測定することに成功した。化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを進行中である。

研究成果の概要（英文）：To develop a new ion channel-targeted drug screening system for high throughput screening (HTS) assay, we have established HEK293-based “test cell” expressing a mutated Na<sup>+</sup> channel lacking inactivation and a K<sup>+</sup> channel (Kir2.1) that hyperpolarizes the membrane potential (PCT/JP2011/064967). We found that only treatment of the test cells with Ba<sup>2+</sup> is enough to induce action potential and cell death. Then two-pore domain potassium (K2P) channels were additionally expressed in the test cells because K2P channels are involved in progression of various disease and thought to be druggable targets. In this system, both activating and inhibitory effects of drugs on K2P channels can be easily and accurately estimated using simple cell death assay. IC<sub>50</sub> values of these blockers acquired by both manual and automated process were close to those obtained using patch-clamp recordings. Now drug screenings using compound library are in progress.

研究分野：薬理学

キーワード：イオンチャンネル 薬理学 ハイスループットスクリーニング 細胞死 創薬 薬学 パッチクランプ 活動電位

### 1. 研究開始当初の背景

イオンチャネル創薬での低コスト高効率の探索系確立を目指して、我々は静止膜電位を深くする内向き整流性 K<sup>+</sup>チャネル (Kir2.1) を強制定常発現させた細胞に、遺伝子変異により不活性化が極めて遅い電位依存性 Na<sup>+</sup>チャネル (IFM/QQQ) を共発現させた。そして刺激が入らない限り通常の細胞寿命を保ち、刺激により1発の活動電位が発生すると確実に死に至る細胞で、安定的に増殖・維持可能な培養細胞 (以下では試験細胞) の創成に成功した (「イオンチャネルに作用する化合物のスクリーニング用材料及びその利用」PCT/JP2011/064967)。本技術のイオンチャネル標的創薬における高効率探索系への応用を模索し、その可能性を示してきた (Fujii ら J Biomol Screen, 2012; J Pharmacol Sci, 2013)。

15種のサブファミリーからなるタンデム型2ポアK<sup>+</sup> (K<sub>2P</sub>) チャネルは比較的最近に発見されたものが多い。各種細胞において静止膜電位保持と細胞環境変化 (細胞外 pH、温度、酸素濃度、脂質系生理活性物質産生) への対応機能を担っており、多様な疾患の原因や病態に関連している。TASK1 や TREK1 を筆頭に、極めて有望な創薬標的分子と考えられているが、臨床試験に至る有効な新規化合物は発見されていない。K<sup>+</sup>チャネル作用薬の大規模高効率作用薬探索には、主に「タリウム法」や「膜電位感受性色素法」が用いられているが、両方法共に重大な欠点があり、一般的な探索系とは全く成り得てない。従って、新規のより精度の高い高効率探索系の開発には大きな社会的ニーズがあると考えられる。本研究で開発する新規探索技術が実用化されれば、重要なイオンチャネル標的創薬技術の一つとなる可能性が高い。

### 2. 研究の目的

(1) 創薬標的イオンチャネルとして有望な K<sub>2P</sub>チャネル (特に「疼痛」「炎症」に深く関わっている TASK1 と TREK1 チャネル) を上記の試験細胞に発現させた際の活性変化を細胞生存で評価できるか明らかにする。

(2) 従来法では 96 ウェルプレートに播種した細胞に対して手動で電気刺激を与えて、活動電位を誘発していた。しかし、ハイスループットスクリーニングシステムへと応用展開するためには 96 ウェルプレートで迅速かつ簡便に電気刺激を与える装置の開発が必要となる。本研究課題では、96 あるいは 386 ウェルプレートを用いた低コストかつ簡便な刺激方法の実用化を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 上記試験細胞に対して創薬標的候補となる各種イオンチャネル (TASK-1, TASK-3, TREK-1 など) をバキュロウイルスを用いて発現させる。パッチクランプ法や膜電位感受性色素を用いた膜電位測定法、MTT を用いた細胞死測定により、K<sub>2P</sub>チャネル活性を本スクリーニング系で評価できるか検証する。

(2) 予備実験では低濃度の Ba<sup>2+</sup> を添加することで試験細胞の細胞死が誘発されることを確認している。そこで、この原理が簡便かつ新規の活動電位誘発法になるか上記の手法を用いて検証する。

### 4. 研究成果

まず、試験細胞に低濃度 Ba<sup>2+</sup> (Kir 2.1 特異的阻害剤) を加えた際の膜電位変化を測定した。その結果、膜電位が脱分極し、IFM/QQQ が開口してオーバーシュートを起こして持続的な活動電位が発生した (図 1A-B)。MTT 法によって細胞生存度を測定したところ、Ba<sup>2+</sup> 投与によって有意に細胞死が誘発されていた (図 1C-E)。DRC を作成して IC<sub>50</sub> を求めたところ、得られた値はパッチクランプ法で取得した Kir2.1 に対する IC<sub>50</sub> と殆ど同じであった。

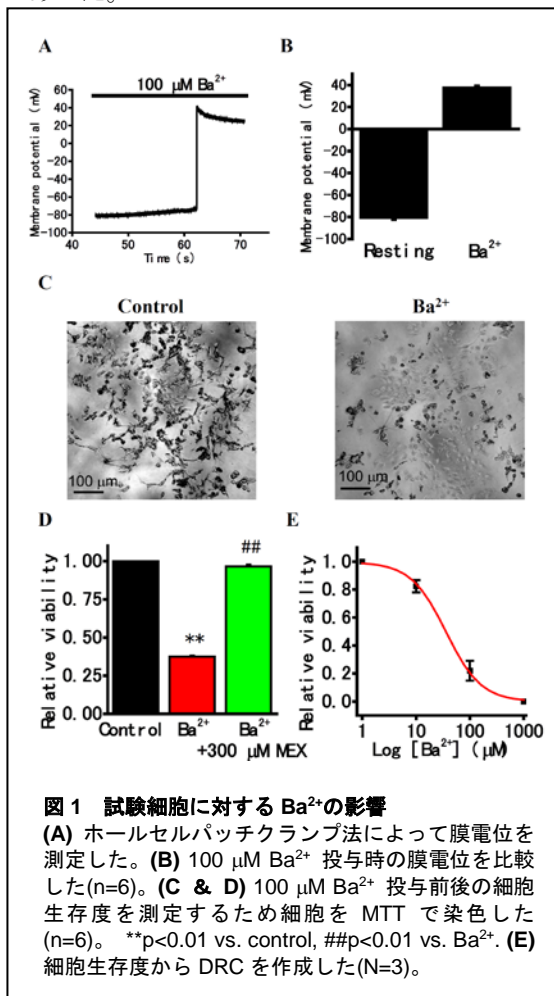
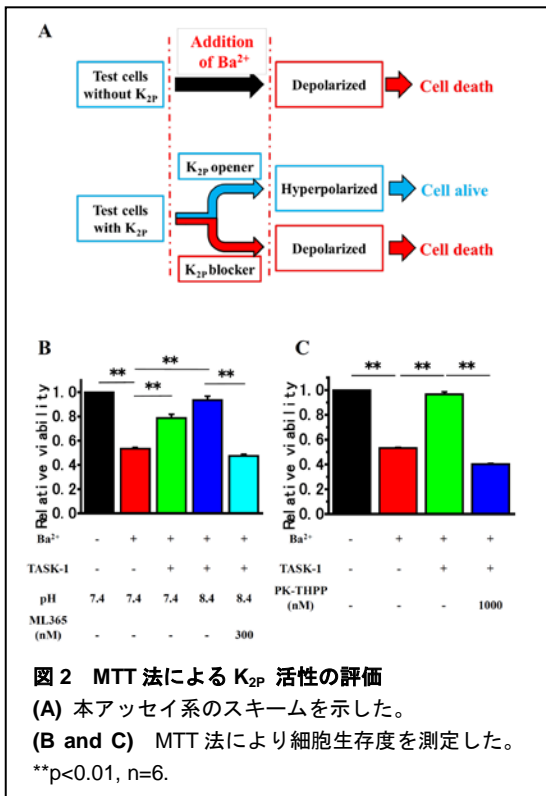


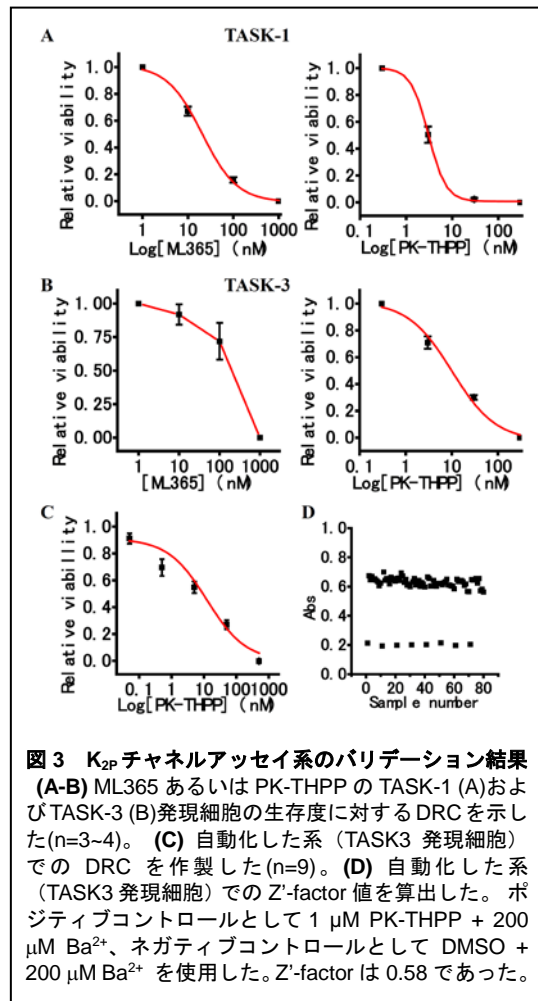
図1 試験細胞に対する Ba<sup>2+</sup>の影響

(A) ホールセルパッチクランプ法によって膜電位を測定した。(B) 100 μM Ba<sup>2+</sup> 投与時の膜電位を比較した(n=6)。(C & D) 100 μM Ba<sup>2+</sup> 投与前後の細胞生存度を測定するため細胞を MTT で染色した(n=6)。\*\*p<0.01 vs. control, ###p<0.01 vs. Ba<sup>2+</sup>。(E) 細胞生存度から DRC を作成した(N=3)。



次に、TASK-1 あるいは TASK-3 をバキュロウイルスによって一過性発現させて検討を行った。パッチクランプ法で各イオンチャネルの電流を測定したところそれぞれのチャネルの高発現が観察された。膜電位感受性色素で細胞膜電位をモニターしたところ、TASK-1 あるいは TASK-3 発現細胞では  $Ba^{2+}$  を投与しても IFM/QQQ の活性化による膜脱分極は観察されなかったが、それぞれの阻害薬 (ML-365、および PK-THPP) 存在下では膜脱分極および持続的な活動電位が誘発された。MTT 法にて阻害薬存在下および非存在下の  $Ba^{2+}$  による細胞死測定を行ったところ、各チャネル阻害薬によって細胞生存度は有意に低下した (図 2)。また、TASK-1 活性は中性 pH で 50% 程度であり、細胞外アルカリ化によって活性が増大することが知られている。そこで細胞外アルカリ化が TASK-1 の活性化を介して  $Ba^{2+}$  誘発性細胞死を抑制するか調べたところ、図 2 に示すようにアルカリ化によって細胞生存度が増加し、その効果は TASK-1 阻害薬で抑制されることが実証された。本アッセイ系の正確性を調べるため既知の阻害薬の  $IC_{50}$  を算出した。その結果、報告されているパッチクランプ法によって得られた値と同等の  $IC_{50}$  が算出された (図 3)。TREK-1 についても MTT 法によって、8-Br-cAMP あるいは温度による活性変化を細胞死で評価できるか解析した。その結果、チャネル活性と細胞生存度が相関を示すことが明らかになった。

大規模スクリーニングに向けて作業の自動化を試みた。細胞のプレートへの播種と薬物の投与、培地の洗浄の工程をそれぞれ機器によって自動で行った。TASK-3 発現細胞に



ついて、MTT 法により  $Ba^{2+}$  投与群と  $Ba^{2+}$  + PK-THPP 投与群の細胞生存度から  $Z'$  factor を算出したところ、0.5 を超える値が得られた (図 3)。従って本アッセイ系は優れたスクリーニング系であることが明らかになった。現在化合物ライブラリーを用いたパイロットスクリーニングの進行中である。

## 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 14 件) .

1. Matsuki K, Kato D, Takemoto M, Suzuki Y, Yamamura H, Ohya S, Takeshima H, Imaizumi Y. Negative regulation of cellular  $Ca^{2+}$  mobilization by ryanodine receptor type 3 in mouse mesenteric artery smooth muscle. Am J Physiol Cell Physiol. in press.   
【査読有】  
doi:10.1152/ajpcell.00006.2018
2. Yamamura H, Suzuki Y, Yamamura H, Asai K, Giles W, Imaizumi Y. Hypoxic stress up-regulates Kir2.1 expression by a pathway including hypoxic-inducible factor-1 and dynamin2 in brain capillary endothelial cells. Am J

- Physiol Cell Physiol. in press.  
【査読有】  
doi: 10.1152/ajpcell.00154.2017.
3. Yamamura H, Kawasaki K, Inagaki S, Suzuki Y, Imaizumi Y. Local  $Ca^{2+}$  coupling between mitochondria and sarcoplasmic reticulum following depolarization in guinea pig urinary bladder smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 314(1):C88-C98 (2018). 【査読有】  
doi: 10.1152/ajpcell.00208.2017.
  4. Yamamura H, Nishimura K, Hagihara Y, Suzuki Y, Imaizumi Y. TMEM16A and TMEM16B channel proteins generate  $Ca^{2+}$ -activated  $Cl^-$  current and regulate melatonin secretion in rat pineal glands. *J Biol Chem*. 293(3):995-1006 (2018). 【査読有】  
doi: 10.1152/ajpcell.00208.2017.
  5. Hatano N, Ohya S, Imaizumi Y, Clark RB, Belke D, Giles WR. ATP increases  $[Ca^{2+}]_i$  and activates a  $Ca^{2+}$ -dependent  $Cl^-$  current in rat ventricular fibroblasts. *Exp Physiol*. 103(5):666-682. 【査読有】  
doi:10.1113/EP086822.
  6. Matsuki K, Takemoto M, Suzuki Y, Yamamura H, Ohya S, Takehima H, Imaizumi Y. Ryanodine receptor type 3 does not contribute to contractions in the mouse myometrium regardless of pregnancy. *Pflugers Arch*. 469(2):313-326 (2017). 【査読有】  
doi: 10.1007/s00424-016-1900-z.
  7. Sakamoto K, Suzuki Y, Yamamura H, Ohya S, Muraki K, Imaizumi Y. Molecular mechanisms underlying pimaric acid-induced modulation of voltage-gated  $K^+$  channels. *J Pharmacol Sci*. 133(4):223-231 (2017). 【査読有】  
doi: 10.1016/j.jphs.2017.02.013
  8. Yamamura H, Suzuki Y, Imaizumi Y. Physiological roles of mitochondria and mitofusins on  $Ca^{2+}$  signaling in smooth muscles. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 149(6):260-263 (2017).doi: 10.1254/fpj.149.260.
  9. Ogiwara K, Ohya S, Suzuki Y, Yamamura H, Imaizumi Y. Up-Regulation of the Voltage-Gated KV2.1  $K^+$  Channel in the Renal Arterial Myocytes of Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. *Biol Pharm Bull*. 40(9):1468-1474 (2017). 【査読有】  
doi: 10.1248/bpb.b17-00289.
  10. Suzuki Y, Tsutsumi K, Miyamoto T, Yamamura H, Imaizumi Y. Heterodimerization of two pore domain  $K^+$  channel TASK1 and TALK2 in living heterologous expression systems. *PLoS One*. 12(10):e0186252 (2017).
  11. Mizutani H, Yamamura H, Muramatsu M, Hagihara Y, Suzuki Y, Imaizumi Y. Modulation of  $Ca^{2+}$  oscillation and melatonin secretion by  $BK_{Ca}$  channel activity in rat pinealocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 310(9):C740-7 (2016). 【査読有】  
doi: 10.1152/ajpcell.00342.2015.
  12. Hirata T, Terai T, Yamamura H, Shimonishi M, Komatsu T, Hanaoka K, Ueno T, Imaizumi Y, Nagano T, Urano Y. Protein-coupled fluorescent probe to visualize potassium ion transition on cellular membranes. *Anal Chem*. 88(5):2693-700 (2016). 【査読有】  
doi: 10.1021/acs.analchem.5b03970
  13. Yamamura H, Suzuki Y, Yamamura H, Asai K, Imaizumi Y. Hypoxic stress up-regulates Kir2.1 expression and facilitates cell proliferation in brain capillary endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 476(4):386-92 (2016). 【査読有】  
doi: 10.1016/j.bbrc.2016.05.131.
  14. Suzuki Y, Ohya S, Yamamura H, Giles WR, Imaizumi Y. A new splice variant of large-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  (BK) channel  $\alpha$  subunit alters human chondrocyte function. *J Biol Chem*. 291(46):24247-60 (2016). 【査読有】  
doi:10.1074/jbc.M116.743302  
【査読有】  
doi: 10.1371/journal.pone.0186252.
- 〔学会発表〕(計 58 件)
1. 山村英斗、鈴木良明、山村寿男、浅井清文、Wayne Giles、今泉祐治  
低酸素ストレスは、HIF-1 $\alpha$ -Dynamin2-Kir2.1 シグナルを介して、脳微小血管内皮細胞の細胞増殖亢進に寄与する。  
日本薬学会第 138 年会、2018 年 3 月 28 日(金沢) ; 28G-am06S
  2. 川崎桂輔、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治  
改変遺伝子導入培養細胞系を用いた  $K_{2P}$  チャネル標的作用薬の新規高効率評価方法  
日本薬学会第 138 年会、2018 年 3 月 28 日(金沢) ; 28M-pm02S
  3. 今泉祐治【日本薬学会賞受賞講演】  
疾患治療標的および創薬標的としてのイオンチャネル分子機能解明  
日本薬学会第 138 年会、2018 年 3 月 27 日(金沢) ; AL03.

4. Hideto Yamamura, Yoshiaki Suzuki, Hisao Yamamura, Kiyofumi Asai, Yuji Imaizumi  
Hypoxic stress facilitates cell proliferation via Kir2.1 up-regulation in brain endothelial cells  
Alberta-Japan Agency for Medical Research and Development (AMED) workshop for medical innovation, Feb 24-25, 2017, (Calgary); 18A.
5. Yoshiaki Suzuki, Susumu Ohya, Hisao Yamamura, Wayne R. Giles, Yuji Imaizumi  
Involvement of calcium related ion channels in inflammatory response in chondrocyte  
Alberta-Japan Agency for Medical Research and Development (AMED) workshop for medical innovation, Feb 24-25, 2017, (Calgary); 18B.
6. 山村英斗、鈴木良明、山村寿男、浅井清文、今泉祐治  
脳血管内皮細胞において低酸素ストレスは、dynamin-2を介して細胞膜上のKir2.1発現量を増加させ、細胞増殖の亢進に寄与している  
第90回日本薬理学会年会、2017年3月15日(長崎); 1-0-56.
7. 堤香菜子、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治  
Two-pore-domain K<sup>+</sup>チャネル TASK1、TALK2の異種2量体形成の解明  
第90回日本薬理学会年会、2017年3月15日(長崎); 1-SS-47.
8. 鈴木良明、大矢進、山村寿男、Wayne R. Giles、今泉祐治  
BKチャネルαサブユニット新規スプライスバリエント体による軟骨細胞機能の修飾  
第90回日本薬理学会年会、2017年3月16日(長崎); 2-NS-09.
9. 川崎桂輔、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治  
改変遺伝子導入培養細胞系を用いたK<sub>2P</sub>チャネル作用薬の新規高効率評価法の開発  
第90回日本薬理学会年会、2017年3月16日(長崎); 2-YIA-06.
10. 山村寿男、近藤るびい、古川奈美、鈴木良明、今泉祐治  
門脈圧亢進症におけるCa<sup>2+</sup>活性化Cl<sup>-</sup>チャネルTMEM16Aの発現低下  
第90回日本薬理学会年会、2017年3月16日(長崎); 2-YS-02-3.
11. 鈴木良明、堤香菜子、宮本達也、山村寿男、今泉祐治  
TASK1-TALK2異種2量体形成によるチャネル機能の多様化  
日本薬学会第137年会、2017年3月27日(仙台); 27W-am01.
12. 萩原由実子、山村寿男、西村歌織、鈴木良明、今泉祐治  
ラット松果体細胞においてCa<sup>2+</sup>活性化Cl<sup>-</sup>チャネルとして機能するTMEM16A/Bヘテロ二量体  
日本薬学会年会第137年会、2017年3月27日(仙台); 27W-am03S.
13. 山村寿男、川崎桂輔、稲垣奏、鈴木良明、今泉祐治  
平滑筋Ca<sup>2+</sup>シグナルにおけるミトフュージン2の生理機能  
第94回日本生理学会大会、2017年3月28日(浜松); 1PS01C1-3.
14. 萩原由実子、山村寿男、西村歌織、鈴木良明、今泉祐治  
松果体Ca<sup>2+</sup>活性化Cl<sup>-</sup>チャネルを構成するTMEM16AとTMEM16Bのホモ・ヘテロ複合体の電流特性  
第131回日本薬理学会近畿部会、2017年06月30日(名古屋); B-14
15. 山村英斗、鈴木良明、山村寿男、浅井清文、今泉祐治  
低酸素培養下におけるHIF-1α-Dynamin2-Kir2.1シグナルは、脳血管内皮細胞の細胞増殖亢進に寄与する。  
第131回日本薬理学会近畿部会、2017年6月30日(名古屋); B-18
16. 鈴木良明、堤香菜子、宮本達也、山村寿男、今泉祐治  
TASK1-TALK2異種2量体形成によるチャネル特性の変化  
第131回日本薬理学会近畿部会、2017年6月30日(名古屋); A-22
17. 古川奈美、山村寿男、近藤るびい、鈴木良明、今泉祐治  
門脈圧亢進症モデルマウスの門脈平滑筋におけるTMEM16A発現調節機構について  
第59回日本平滑筋学会総会、2017年8月24日(福岡); YIA-10
18. 山村英斗、鈴木良明、山村寿男、浅井清文、Wayne Giles、今泉祐治  
低酸素培養下脳微小血管内皮細胞の細胞増殖に対するHIF-1α-Dynamin2-Kir2.1シグナルの関与  
生体機能と創薬シンポジウム2017、2017年8月24~25日(京都); P-11
19. Hideto Yamamura, Yoshiaki Suzuki, Hisao Yamamura, Kiyofumi Asai, Wayne Giles and Yuji Imaizumi  
Hypoxic stress facilitates cell proliferation via dynamin2-Kir2.1 pathway in brain capillary endothelial cells.  
20th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium

- Function in Health and Disease (CaBP20), Oct 22-26, 2017, (Awaji); P-27
20. Yoshiaki Suzuki  
A new splice variant of large-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  (BK) channel a subunit alters human chondrocyte function.  
20th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function in Health and Disease (CaBP20), Oct 22-26, 2017, (Awaji); P-28
21. Takanori Saeki, Yoshiaki Suzuki, Hisao Yamamura, Hiroshi Takeshima, Yuji Imaizumi  
Functional molecular complexes of junctophilin-2 and caveolin-1 are essential for  $Ca^{2+}$ -microdomain formation in vascular smooth muscle cells  
20th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function in Health and Disease, Oct 24, 2017, (Awaji); Short Talk
22. 鈴木貴久、山村寿男、安本美貴、鈴木良明、今泉祐治  
脳微小血管内皮細胞における TMEM16A の機能解析  
第 132 回日本薬理学会近畿部会、2017 年 11 月 24 日 (大阪) : B-21
23. 佐伯尚紀、鈴木良明、山村寿男、竹島浩、今泉祐治  
血管平滑筋細胞のカベオラを中心とする  $Ca^{2+}$  マイクロドメイン形成におけるジャンクトフィリン 2 機能の解明  
第 129 回日本薬理学会近畿部会、2016 年 6 月 24 日 (広島) ; B-17.
24. 山田啓史、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治  
軟骨細胞において低浸透圧応答に関与する  $Cl^-$  チャネルの機能解析  
次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2016、2016 年 8 月 24 日 (仙台) ; Y2-5.
25. 山村英斗、鈴木良明、山村寿男、浅井清文、今泉祐治  
低酸素ストレス負荷脳血管内皮細胞の細胞増殖に対する Kir2.1 の役割  
次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2016、2016 年 8 月 24 日 (仙台) ; Y4-3.
26. 堤香菜子、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治  
2 ポアドメイン  $K^+$  チャネルのヘテロ 2 量体形成によるチャネル特性の変化  
第 38 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2016 年 11 月 17 日 (名古屋) ; Pos-16.
27. 萩原由実子、山村寿男、西村歌織、鈴木良明、今泉祐治  
松果体の  $Ca^{2+}$  活性化  $Cl^-$  チャネルとして

構成する TMEM16A/B ヘテロ二量体  
第 38 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2016 年 11 月 18 日 (名古屋) ; B2-07.

28. 松木克仁、加藤大樹、竹本将士、鈴木良明、山村寿男、大矢 進、竹島 浩、今泉祐治  
血管平滑筋の細胞内  $Ca^{2+}$  動員機構制御に対する 3 型リアノジン受容体の関与  
第 26 回日本循環薬理学会、2016 年 12 月 2 日 (松本) ; YIA-06.
29. 山村英斗、鈴木良明、山村寿男、浅井清文、今泉祐治  
脳虚血時を想定した低酸素ストレス負荷脳血管内皮細胞の細胞増殖に対する Kir2.1 の機能的役割  
第 26 回日本循環薬理学会、2016 年 12 月 2 日 (松本) ; YIA-07

〔図書〕 (計 2 件)

1. 今泉祐治、みてわかる薬学 図解 薬理学 (2015)、8 章 腎・泌尿器系の薬理. 556-591.
2. 今泉祐治、スタンダード薬学シリーズ II -6 医療薬学 I (2015)、第 1 章 薬の作用 (SB01-3). 4-19.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: イオンチャネルに作用する化合物のスクリーニング用材料及びその利用 (追加特許出願)

発明者: 今泉祐治、山村寿男、鈴木良明、川崎 桂輔、成田 寛

権利者: 公立大学法人名古屋市立大学、株式会社チャネロサーチテクノロジー

種類: 特許

番号: 特願 2016-214685

出願年月日: 2016 年 11 月 1 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/ysg/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今泉祐治 (Imaizumi Yuji)

名古屋市立大学・薬学研究科・教授

研究者番号: 60117794

(2) 研究分担者

山村寿男 (Yamamura Hisao)

名古屋市立大学・薬学研究科・准教授

研究者番号: 80398362

鈴木良明 (Suzuki Yoshiaki)

名古屋市立大学・薬学研究科・助教

研究者番号: 80707555