

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24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2007～2011

課題番号：19109005

研究課題名（和文） T細胞の抗原認識と活性化の時空間制御の解析

研究課題名（英文） Spatiotemporal regulation of antigen recognition and activation of T cells

研究代表者

斉藤 隆 (SAITO TAKASHI)

独立行政法人理化学研究所・免疫シグナル研究グループ・グループディレクター

研究者番号：50205655

研究成果の概要（和文）：

T細胞の活性化は、TCR ミクロクラスター(MC)を介して誘導される。MCに集結する分子を明らかにし、活性化を制御する副刺激、ラフトとの関係を明確にした。T細胞活性化でラフトはplatformにはならず、MCでの蛋白相互作用による。CD28による副刺激シグナルは、cSMACにPKC θ -Carma1をリクルートして誘導されるのに対して、抑制性副刺激CTLA-4は、cSMACに直接集まってCD28-PKC θ を追い出して活性化を抑制する。TCR-MCはダイニンと会合して、微小管にそって動き、cSMACを形成する。

研究成果の概要（英文）：

T cell activation is induced by TCR-microcluster (MC). We clarified the molecules accumulated within MCs, and the relationship with costimulation signals and lipid raft. Lipid raft does not function as the platform and protein interaction within MCs induce activation. CD28-mediated costimulation recruits PKC θ -Carma1 to cSMAC, whereas the inhibitory costimulation receptor CTLA-4 inhibits by accumulating in cSMAC and kicking off CD28-PKC θ from the cSMAC. TCR-MCs associate with the dynein complex and translocate along microtubules to form cSMAC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	18,000,000	5,400,000	23,400,000
2008年度	16,600,000	4,980,000	21,580,000
2009年度	16,600,000	4,980,000	21,580,000
2010年度	16,600,000	4,980,000	21,580,000
2011年度	16,600,000	4,980,000	21,580,000
総計	84,400,000	25,320,000	109,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：免疫シナプス、ミクロクラスター、シグナル伝達、抗原認識、T細胞、細胞活性化、副刺激、

1. 研究開始当初の背景

免疫応答は、T細胞がT細胞抗原受容体(TCR)を介して、抗原提示細胞表面のMHC-ペプチド複合体を認識して、T細胞が活性化されることによって始まる。この認識・活性

化の誘導には、T細胞と樹状細胞などの抗原提示細胞とがリンパ節で出会い、接着し、細胞間インターフェイスには、特殊な分子構造、免疫シナプスが形成されることが重要と考えられていた。免疫シナプスの中心には抗原

認識を担う TCR などが集積して、その周りには、細胞間接着を担うインテグリン LFA-1 などが配向する。免疫シナプスの形成はダイナミックで、接着から 5-10 分で誘導される。シナプスが T 細胞活性化を誘導する構造と考えられていたが、T 細胞活性化による初期シグナル、チロシンリン酸化や Ca^{2+} 動員などは 1-2 分で誘導されることから、免疫シナプス形成以前に活性化を誘導する機構があると思われた。活性化機構を詳細にリアルタイムでイメージング解析を進め、免疫シナプスの形成以前に、TCR が 100 分子程度集積した TCR ミクロクラスターが形成されることを見いだした。TCR ミクロクラスターには、キナーゼやアダプターが集積し、実際にミクロクラスター内のリン酸化や Ca^{2+} 動員などを誘導する、活性化シグナルの伝達ユニットであることが判明した。TCR ミクロクラスターを中心とする活性化機構を改めて解析する必要が出てきた。

2. 研究の目的

T 細胞の活性化が、TCR ミクロクラスターという全く新しい構造とメカニズムによって誘導されることが判明したことから、T 細胞の活性化とその制御の機構を、種々の観点から全面的に再評価するための解析を行う。そのため、(1)TCR ミクロクラスターに集積する分子群の同定をし、(2)そこからミクロクラスターおよびシナプス中心の cSMAC の機能 (3)活性化プラットフォームと考えられていたラフトとの関係を明らかにし、(4)副刺激 costimulation シグナルによる正と負の制御系を解析し、(5)TCR ミクロクラスターのダイナミックな動態の制御機構を明らかにする、ことを目的とした。

3. 研究の方法

抗原特異的な T 細胞の活性化をミクロのレベルでリアルタイムで詳細に解析するために、最先端のイメージング解析システムを駆使した。抗原ペプチド (MCC) を会合させた GPI 結合型の MHC クラス II および GPI 型 ICAM1 を人工的脂質二重膜に組み込んだ planar 膜を、人工的抗原提示細胞として用いた。種々の GFP 融合シグナル分子 (受容体、キナーゼ、アダプター分子など) を導入した T 細胞をこの planar 膜に落として反応させ、全反射顕微鏡 (TIRF) を用いて、膜近傍の分子動態変化を一分子レベルの解像度にて解析した。

4. 研究成果

(1) TCR ミクロクラスターに集積する分子群の同定: TCR による抗原認識にともなって形成される TCR ミクロクラスターに集積・リクルートされる分子を同定するため、TCR 下流シグナルに関与する分子を GFP 融合蛋

白として発現させ、TIRF で TCR 刺激にともなってミクロクラスターに集積・共局在するかを解析した。TCR-CD3 の他に、ZAP70, SLP76, Gads, Sos, PI3K, PLC γ 1, Vav1, Itk, Nck, WASP, CD28, PKC θ などがミクロクラスターに集まることがわかり、PLC γ 1 から産生される IP3, DAG など可溶メディエーターの下流分子群は、ミクロクラスターに共存せず、上流シグナルのシグナル複合体ユニットであることがわかった。

(2) TCR ミクロクラスターおよびシナプス中心 cSMAC の機能: cSMAC が形成された後も、接着面の周辺部からミクロクラスターが新しく形成される。周辺の細胞膜においては、ラメラポディア様の膜構造をとって、MHCp と相互作用して、新しいミクロクラスターが形成され、活性化シグナルを導入して、中心部分に移動し、cSMAC へと運ばれる。蛋白リン酸化はミクロクラスターでのみ検出され cSMAC では検出されないことから、cSMAC では TCR 活性化シグナルは誘導されないことがわかった。むしろ細胞内に TCR 複合体を取込、分解するための構造と考えられる。抗 MHCp 抗体で TCR-MHCp 相互作用を阻害して新たなミクロクラスターの形成を阻止すると、cSMAC での TCR-MHCp 結合は続くが、 Ca^{2+} 動員などの活性化は阻害されることから、ミクロクラスターから活性化シグナルが誘導されていることが解った。

(3) 活性化プラットフォームと考えられていたラフトとの関係:

細胞膜上のコレステロールが豊富な lipid raft (ラフト) が、種々の活性化シグナル分子を包含し、T 細胞の活性化のプラットフォームとして機能していると議論はあるものの、考えられてきた。TCR ミクロクラスターが活性化の場であるとする、ラフトとの異同が問題になる。この問題を解明するために、種々のラフトマーカーを使って TCR ミクロクラスターと一致するか、およびラフト構造を壊した場合の TCR ミクロクラスター形成への影響を調べた。ラフトマーカーとしては、脂質を介する膜結合領域をもつ LAT 膜結合領域や LckN 末領域などと、これら毒素 B サブユニット (CTB) を用いて、活性化にともなう TCR ミクロクラスターとの関係を調べた。TCR ミクロクラスター形成に伴っても、全てのマーカーは活性化によってクラスターを形成しなかった。唯一 CTB は、細胞間インターフェイスに集積するように見えるが、細胞膜が取り込まれて肥厚していることを反映しているだけであることが判明した。一方、LAT のラフト局在領域の変異分子の解析から、ラフトは LAT などラフト局在

分子を細胞膜に輸送する機能を担っていることが判明した。即ち、TCR 活性化においては、ラフトの凝集は起こらず、蛋白相互作用を基盤とする TCR ミクロクラスターが活性化構造であると思われた。

(4) 副刺激 costimulation シグナルによる T 細胞活性化の制御系の解析：T 細胞の活性化には、副刺激シグナルが必須で、副刺激の無い場合には T 細胞は不応答状態（アナジー）に陥る。副刺激シグナルと TCR ミクロクラスターとの関係を解明した。正のシグナル制御の主要な副刺激シグナル受容体である CD28 と、負の制御を担う副刺激受容体 CTLA-4 による制御系を解析した。TCR 刺激によって、CD28 は TCR ミクロクラスターに共存し、やがて cSMAC に集結したが、TCR が凝集する領域 (CD3^{hi}) とは異なる CD3^{lo} の領域に集まった。CD28 と同じ動態をするシグナル分子を検索した結果、PKC θ のみが CD28 と同様に、まずミクロクラスターに共存し、CD3^{lo} cSMAC に集まる。CD28 クラスター形成を CTLA4-Ig で阻害すると、PKC θ もリクルートされないことから、CD28 が PKC θ をリクルートすることが明らかになった。CD28 と PKC θ が会合することも初めて証明した。更に NF κ B 活性化に不可欠な Carma1 も PKC θ と同じ動態を示し、cSMAC に集結する CD28-PKC θ -Carma1 は NF- κ B 活性化へのシグナル複合体であると示唆された。

負の副刺激受容体 CTLA-4 は、活性化によって初めて発現し、CD28 とリガンドを同じにし、CD28 より親和性が高いためりがん度結合を競合する。CTLA-4 は活性化で直接 CD28 のある CD3^{lo} cSMAC 領域の細胞膜に発現し、リガンドと会合して、CD28-PKC θ を cSMAC から追い出すことによって、活性化の抑制を行っていることが判明した。

(5) TCR ミクロクラスターのダイナミックな動態の制御機構

TCR ミクロクラスターは強い活性化では cSMAC を形成して、TCR を取込分解するが、弱い活性化では、cSMAC を形成しない。どのように cSMAC が動くのかを解析した結果、モーター蛋白ダイニンが TCR ミクロクラスターと完全に共存して、ミクロクラスターは微小管にそってダイニンによって運ばれることが解った。ダイニン・ダイナクチンが TCR 複合体と共沈することがわかり、活性化に伴って、TCR ミクロクラスターはダイニン複合体と会合して、微小管を伝わって中心に動くことが判明した。このダイナミックな制御は、強い抗原刺激でのみ誘導され、弱い刺激では、ミクロクラスターも動かないことから、代人複合体と機能的な会合ができないと考えら

れる。ダイニンや微小管を siRNA などでの機能をなくすと、cSMAC の形成が阻害されたが、T 細胞活性化は昂進された。このことは、TCR ミクロクラスターが移動して cSMAC を形成し、取り込まれて分解されることと共に T 細胞活性化の負の調節になっていることが明らかになった。

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 46 件)

1. Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, Hashimoto-Tane A, Azuma M, Saito T.: Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J. Exp. Med.* in press. 査読有
2. Kong K-F et al.(6 人中 5 番目): A motif in the V3 domain of the kinase PKC- θ determines its localization in the immunological synapse and functions in T cells via association with CD28. *Nat. Immunol.* 12:1105-12, 2011. 査読有
3. Saito T: Nanocluster formation: More with memory. *Immunity*, 35; 318-320 2011. 査読無
4. Kometani K, Yamada T, Sasaki Y, Yokosuka T, Saito T, Rajewsky K, Ishiai M, Hikida M, Kurosaki T.: CIN85 regulates the canonical NF- κ B pathway and subsequent B cell responses. *J. Exp. Med.* 208:1447-1457, 2011. 査読有
5. Hashimoto-Tane A, Yokosuka T, Sakata-Sogawa K, Sakuma M, Ishihara C, Tokunaga M, Saito T: Dynein-driven transport of T cell receptor microclusters regulates immune synapse formation and T cell activation. *Immunity*, 34:919-931, 2011. 査読有
6. Atarashi K et al.(17 人中 9 番目): Induction of colonic regulatory T cells by indigenous clostridium species. *Science*, 331:337-341, 2011. 査読有
7. Saito T, Yokosuka T, Hashimoto-Tane A.: Dynamic regulation of T cell activation and co-stimulation through TCR-microclusters. *FEBS Lett.*, 584: 4865-4871, 2010. 査読有
8. Ishikawa E et al.(5 人中 4 番目): Germ-line

- elimination of electric charge on pre-T-cell receptor (TCR) impairs autonomous signaling for beta-selection and TCR repertoire formation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 107: 19979-19984, 2010. 査読有
9. Yokosuka T, Kobayashi W, Takamatsu M, Sakata-Sogawa K, Zeng H, Hashimoto-Tane A, Yagita H, Tokunaga M, Saito T: Spatiotemporal basis of CTLA-4 costimulatory molecule-mediated negative regulation of T cell activation. *Immunity*, 33:326-339, 2010. 査読有
 10. Hashimoto-Tane A, Yokosuka T, Ishihara C, Sakuma M, Kobayashi W and Saito T: T cell receptor-microclusters critical for T-cell activation are formed independently of lipid raft clustering. *Mol. Cel. Biol.* 30:3421-3429, 2010. 査読有
 11. Saijo S et al.(21 人中 19 番目): Dectin-2 recognition of α -mannans and induction of Th17 cell differentiation is essential for host defense against *Candida albicans*. *Immunity* 32: 681-691, 2010. 査読有
 12. Takeuchi A, Itoh Y, Takumi A, Ishihara C, Arase N, Yokosuka T, Koseki H, Yamasaki S, Takai Y, Miyoshi J, Ogasawara K, and Saito T: CRTAM confers late-stage activation of CD8⁺ T cells to regulate retention within lymph node. *J. Immunol.* 183: 4220-4228, 2009. 査読有
 13. Yokosuka T and Saito T: Dynamic regulation of T-cell costimulation through TCR-CD28 microclusters. *Immunol. Rev.* 229: 27-40, 2009. 査読有
 14. Hara H and Saito T: CARD9 versus CARMA1 in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.* 30: 234-242, 2009. 査読有
 15. Sato K et al.(14 人中 13 番目): Naturally occurring regulatory dendritic cells regulate murine cutaneous chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 113: 4780-4789, 2009. 査読有
 16. Yamasaki S, Matsumoto M, Takeuchi O, Matsuzawa T, Ishikawa E, Sakuma M, Tateno H, Uno J, Hirabayashi J, Mikami Y, Takeda K, Akira S, Saito T: C-type lectin Mincle is an activating receptor for pathogenic fungus, *Malassezia*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 10: 1897-1902, 2009. 査読有
 17. Hida S et al.(10 人中 9 番目): Fc receptor γ -chain, a constitutive component of the IL-3 receptor, is required for IL-3-induced IL-4 production in basophils. *Nat Immunol.* 10: 214-222, 2009. 査読有
 18. Kometani K et al.(9 人中 7 番目): Essential role of Rap signal in pre-TCR-mediated β -selection checkpoint in $\alpha\beta$ T cell development. *Blood*. 112: 4565-4573, 2008. 査読有
 19. Yokosuka T, Kobayashi W, Sakata-Sogawa, K, Takamatsu M, Hashimoto-Tane A, Dustin ML, Tokunaga M, Saito T: Spatiotemporal regulation of T cell costimulation by TCR-CD28 microclusters through protein kinase C θ translocation. *Immunity*. 29: 589-601, 2008. 査読有
 20. Yamasaki S, Ishikawa E, Sakuma M, Hara H, Ogata K, Saito T: Mincle is an ITAM-coupled activating receptor that senses damaged cells. *Nat. Immunol.* 9: 1179-1188, 2008. 査読有
 21. Hara H, Ishihara C, Takeuchi A, Xue L, Morris SW, Penninger JM, Yoshida H, Saito T: Cell type-specific regulation of ITAM-mediated NF- κ B activation by the adaptors, CARMA1 and CARD9. *J. Immunol.* 181:918-930, 2008. 査読有
 22. Jensen KD, et al.(12 人中 8 番目): Thymic selection determines $\gamma\delta$ T cell effector fate: antigen-naive cells make interleukin-17 and antigen-experienced cells make interferon γ . *Immunity*. 29: 90-100, 2008. 査読有
 23. Ouchida R, et al.(15 人中 13 番目): A lysosomal protein negatively regulate surface T cell antigen receptor expression by promoting CD3 ζ -chain degradation. *Immunity*. 29: 33-43, 2008. 査読有
 24. Baudino L, et al.(9 人中 5 番目): Differential contribution of three activating IgG Fc receptors (Fc γ RI, Fc γ RIII and Fc γ RIV) to IgG2a- and IgG2b-induced autoimmune hemolytic anemia in mice. *J. Immunol.* 180: 1948-1953, 2008. 査読有
 25. Suenaga T, Arase H, Yamasaki S, Kohno M, Yokosuka T, Takeuchi A, Hattori T, Saito T.: Cloning of B cell-specific membrane

- tetraspanning molecule BTS possessing B cell proliferation-inhibitory function. *Eur. J. Immunol.* 37: 3197-3207, 2007. 査読有
26. Rabie T. et al. (8人中6番目): Diverging signaling events control the pathway of GPVI down-regulation in vivo. *Blood.* 110: 529-535, 2007. 査読有
 27. Imanishi T, Hara H, Suzuki S, Suzuki N, Akira S, Saito T.: TLR2 directly triggers Th1 effector functions. *J. Immunol.* 178:6715-6719, 2007. 査読有
 28. Hara H, et al. (16人中16番目): The adaptor protein CARD9 is essential for the activation of myeloid cells through ITAM-associated and Toll-like receptors. *Nat. Immunol.* 8: 619-629, 2007. 査読有
 29. Yamasaki S, Ishikawa E, Sakuma M, Kanagawa O, Cheng AM, Malissen B, Saito T.: LAT and NTAL mediate immunoglobulin E-induced sustained extracellular signal-regulated kinase activation critical for mast cell survival. *Mol. Cell. Biol.* 27:4406-4415, 2007. 査読有
 30. Yamasaki S, Saito T.: Molecular basis for pre-TCR-mediated autonomous signaling. *Trends. Immunol.* 28: 39-43, 2007. 査読有
 31. Suzuki J-I, Yamasaki S, Wu J, Koretzky GA, Saito T.: The actin cloud induced by LFA-1—mediated outside-in signals lowers the threshold for T-cell activation. *Blood.* 109: 168-175, 2007. 査読有
- [学会発表] (計 124 件)
1. Yokosuka, T. and Saito, T. Negative regulation of TCR signaling by PD-1 microcluster. Keystone Symposia-Regulation of Lymphocyte Signaling. (Keystone, CO, USA. 3.15, 2012)
 2. Saito, T., Yokosuka, T., Hashimoto-Tane, A. Spatiotemporal regulation of T cell activation and costimulation. 1st POSTECH International Symposium of Bio-Imaging (Pohang, Korea, 9.30, 2011)
 3. Saito, T., Yokosuka, T., Tane-Hashimoto, A. Spatiotemporal regulation of T cell co-stimulation. FASEB Summer Conferences-Signal Transduction in the Immune System (Snowmass Village, CO, 6.23, 2011)
 4. Saito, T., Yokosuka, T., Tane-Hashimoto, A., Sakata-Sogawa, K., Tokunaga, M. Visualising the dynamics of immune synapse by TIRF. XXVI Congress of the International Society for Advancement of Cytometry (CYTO2011)(Baltimore, MD, USA, 5.24, 2011)
 5. Saito, T. Immune cell activation under the microscope. World Immune Regulation Meeting-V (WIRM) “Innate and Adaptive Immune Response and Role of Tissue in Immune Regulation” (Davos, Switzerland, 3.25, 2011)
 6. Saito, T. Spatio-temporal regulation of T cell activation. 14th International Congress of Immunology(第 14 回国際免疫学会議) (神戸、8.25, 2010)
 7. Saito, T. Molecular dynamics for T cell activation and costimulation. Keystone Symposia, Lymphocyte Activation and Gene Expression (Breckenridge, CO., 3.3, 2010)
 8. Saito, T. CARD9 and innate immunity. Center for the Study of Inflammatory Bowel Disease 19th Annual Workshop—Integrating Innate and Adaptive Immunity in Complex Human Diseases (Boston, 11.13-14, 2009)
 9. Saito, T. and Yamasaki, S. Sensing self and non-self danger by ITAM-coupled innate receptor Mincle. FASEB Summer Research Conferences—Signal Transduction in the Immune System (Snowmass Village, CO., 6.23, 2009)
 10. Yamasaki, S and Saito, T. Recognition of damaged self and non-self pathogens by ITAM-coupled C-type lectin, Mincle.. World Immune Regulation Meeting-III (Davos, Switzerland, 3.23, 2009)
 11. Saito, T. Dynamic regulation of TCR- and costimulatory signals via microclusters.. Cantoblanco Workshops on Biology—Initiation of Antigen Receptor Signaling. (Madrid, Spain, 10.22, 2008)
 12. Yamasaki, S., Ishikawa, E., Sakuma, M., Hara, H., Ogata, K. and Saito, T. Mincle is an ITAM-coupled activating receptor that senses damaged cells. The 10th International Symposium on Dendritic Cells (神戸、10.3, 2008)

13. Yokosuka, T. and Saito, T. Dynamic Regulation of T Cell Co-stimulation by TCR-CD28 Microclusters. RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2008: Regulation of Immune Homeostasis and Diseases (Yokohama, 6. 26, 2008)
14. Saito, T. Differential cellular adaptors mediating innate and adaptive immunity. Hepatic Inflammation and Immunity 2008. (Galveston, TX, USA. 1.25, 2008)
15. Saito, T. CRTAM regulates retention of T cells within lymph node and delivery to effector tissues. Keystone Symposia/ Novel Modulators of Leukocyte Traffic (Keystone, CO. USA, 1.16, 2008)
16. Yokosuka, T. Spatiotemporal regulation of lymphocyte activation: Signalsome, TCR-microcluster. National Academy of Engineering 2007 Japan-America Frontiers of Engineering Symposium ((Palo Alto, CA, 11.5-7, 2007)
17. Saito, T. Dynamic regulation of T cell activation through TCR micoclusters. 13th International Congress of Immunology(Rio de Janeiro, Brazil, 8.24, 2007)
18. Saito, T. Initiation and sustenance of T cell activation by TCR microclusters. 4th International Leukocyte Signal Transduction Workshop: Clinical implications of signaling pathways (Rhodes, Greece, 6.4, 2007)
19. Saito, T. TCR microclusters and co-stimulation for T cell activation. EMBO Conference Series on "Signaling in the immune system" Lymphocyte antigen receptor and coreceptor signaling (Siena, Italy, 5.26, 2007)

〔図書〕(計 1 件)

1. Yokosuka T and Saito T.: The immunological synapse, TCR microclusters, and T cell activation. In: *Chap. 5, Immunological Synapse, Curr. Top. Microbiol. Immunol. T. Saito and F. D. Batista* (eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 340: 81-107, 2010.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 3 件)

1. 名称：T細胞分化調節剤（および細胞表面タンパク質間の細胞外領域における相互作用の検出システム）

発明者：齊藤隆、山崎晶

権利者：理化学研究所

種類：特許

番号：特願 2007-539809

出願年月日：2007.3.4.

国内外の別：国内、アメリカ、カナダ

2. 名称：糖鎖認識受容体の新規用途

発明者：齊藤隆、山崎晶

権利者：理化学研究所

種類：特許

番号：特願 2008-186570

出願年月日：2008.7.17.

国内外の別：国内、アメリカ、ヨーロッパ

3. 名称：糖鎖認識受容体の新規用途

発明者：齊藤隆、山崎晶

権利者：理化学研究所

種類：特許

番号：特願 2008-285948

出願年月日：2008.11.6.

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.rcai.riken.go.jp/group/signaling/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齊藤 隆 (SAITO TAKASHI)

独立行政法人理化学研究所・免疫シグナル研究グループ・グループディレクター

研究者番号：5 0 2 0 5 6 5 5

(2) 研究分担者

横須賀 忠 (YOKOSUKA TADASHI)

独立行政法人理化学研究所・免疫シグナル研究グループ・上級研究員

研究者番号：1 0 3 5 9 5 9 9

(3) 連携研究者

なし