

平成 23 年 2 月 21 日現在

機関番号：17301  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19390406  
 研究課題名（和文）心筋虚血再灌流障害の克服 —RISK pathway 及び抗酸化機構の制御—  
 研究課題名（英文）Conquest of myocardial ischemia reperfusion injury  
 -Control of RISK pathway and antioxidant mechanism-  
 研究代表者  
 澄川 耕二（SUMIKAWA KOJI）  
 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
 研究者番号：60028660

**研究成果の概要（和文）**：虚血再灌流障害に対する心筋保護は臨床的に重要な課題の一つである。本研究で、周術期に使用する吸入麻酔薬および循環作動薬の薬理的プレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果の分子機序について検討した結果、心筋保護効果における reperfusion injury salvage kinase (RISK) pathway の関与が明らかとなった。また内在性抗酸化機構の心筋アポトーシス制御への関与についても明らかにした。

**研究成果の概要（英文）**：Myocardial protection against the ischemia reperfusion injury is one of the clinically important problems. We examined the molecular mechanism of pharmacological preconditioning and postconditioning effects of inhalation anesthetic and circulation agonist to use for the perioperative period. As a result, we made clear that reperfusion injury salvage kinase (RISK) pathway was involved in myocardial protective effects. Also, we made clear that an endogenous antioxidant mechanism was involved in myocardial apoptosis control.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2007 年度 | 6,300,000  | 1,890,000 | 8,190,000  |
| 2008 年度 | 4,400,000  | 1,320,000 | 5,720,000  |
| 2009 年度 | 3,600,000  | 1,080,000 | 4,680,000  |
| 年度      |            |           |            |
| 年度      |            |           |            |
| 総計      | 14,300,000 | 4,290,000 | 18,590,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：心筋虚血再灌流障害、心筋スタニング、薬理的プレコンディショニング、薬理的ポストコンディショニング、RISK pathway、抗酸化作用、アポトーシス、

## 1. 研究開始当初の背景

## (1) 心筋虚血再灌流障害における RISK pathway の制御

虚血および虚血再灌流障害に対する心筋保護は臨床的に重要な課題の一つであり、心筋虚血再灌流障害の機序を解明するために、*in vitro*、*in vivo* 両面から多くの研究者による労力が費やされてきた。先行する短時間虚血により後の長時間虚血に対する耐性を獲得する現象（虚血プレコンディショニング）および薬理的処置を行うことにより生じるプレコンディショニン

グ効果（薬理的プレコンディショニング）が以前より注目され、多くの研究がなされ、臨床にも応用されている。

一方で、最近注目されているのが虚血ポストコンディショニング効果である。この効果は、長時間虚血後の再灌流初期の短期虚血刺激が心筋保護効果を発揮する現象として定義されている。また再灌流時に薬理的処置を行うことにより生じるポストコンディショニング効果（薬理的ポストコンディショニング）についても研究が進んでいる。また

心筋虚血再灌流障害に対する保護作用のメカニズム解明に伴い、reperfusion injury salvage kinase (RISK) pathway によるプロテインキナーゼ活性が注目されている。RISK pathway における様々なプロテインキナーゼが活性化されることで細胞保護効果を発揮すると考えられているが、薬理的プレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果が期待される薬剤とその保護作用における RISK pathway の詳細な経路についてはまだ不明な点が多く、依然として検討の余地が残されている。

また最近では、心筋保護作用のメカニズムに cyclooxygenase-2 (COX-2) の関与が注目されている。COX-2 阻害薬は、副作用の少ない強力な抗炎症作用が期待され、欧米では臨床において幅広く使用されているが、虚血プレコンディショニングおよび薬理的プレコンディショニングによる保護作用を抑制すると報告されている。しかし、COX-2 が薬理的ポストコンディショニングに与える影響についてはまだ明らかではない。

#### (2)心筋保護における内在性抗酸化機構の解析

酸化ストレスすなわち細胞内で発生する活性酸素とその消去系である抗酸化酵素による酸化還元状態を制御することは細胞の機能維持において大変重要である。虚血性心疾患において、酸化ストレスによるアポトーシスの誘導がその病態の進展に関与していることが示唆されている。また、抗酸化酵素が酸化ストレスによる心筋障害を抑制することが知られている。生体においてタンパク質の遊離 SH 基は種々の細胞機能発現に重要であり、Glutaredoxin (GRX) は遊離 SH 基を酸化ストレスから保護する内在性抗酸化機構のひとつである。GRX は抗アポトーシス効果を持つことが知られているが、その詳細な機構については明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

### (1)心筋虚血再灌流障害における RISK pathway の制御

RISK pathway の経路には、phosphatidylinositol-3-OH kinase (PI3K)-Akt、endothelial NO synthase (eNOS)、mitochondrial permeability transition pore (mPTP) などが複雑に存在し、保護作用を有する種々の薬剤により関与する RISK pathway の経路が異なることが考えられている。

また以前よりプレコンディショニングの発生機序としては、protein kinase C (PKC) や ATP 感受性カリウム (KATP) チャネルの関与が強く示唆されている。

本研究では、周術期に使用する吸入麻酔薬および循環作動薬の薬理的プレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果の分子機序について検討する。

### (2)心筋保護における内在性抗酸化機構の解析

近年、細胞内に豊富に存在する解糖系酵素である glycerinaldehyde-3-phosphate

dehydrogenase (GAPDH) は酸化ストレス下で酸化修飾を受け、アポトーシスの進行に関与することが示唆されている。GAPDH が GRX の持つ抗アポトーシス効果と密接に関連している可能性が高く、本研究ではラットの培養心筋芽細胞株 H9c2-GRX を用いて、GRX による酸化還元状態の制御を介した GAPDH の機能調節とアポトーシス制御への関与を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1)ラット心筋梗塞サイズに対する循環作動薬の薬理的プレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果とその機序の解明

- ① 雄性 SD ラットをエーテルで基礎麻酔後にペントバルビタールの腹腔内投与を行う。気管切開を行い、気切チューブを挿入し、人工呼吸器を装着し調節呼吸とする。内頸動脈に圧トランスデューサーカテーテルを留置し、外頸静脈を薬剤投与路として確保する。
- ② 第4及び第5肋間から開胸し、心臓を露出し、肉眼的に左冠動脈前下行枝 (LAD) を同定し、7-0 絹糸を用いて、LAD を結紮し、急性心筋虚血を作成する。30分間虚血にした後、2時間再灌流を行う。
- ③ 生体監視装置を用いて、動脈圧、心拍数を経時的に測定する。
- ④ 再灌流2時間終了した後、再度 LAD を結紮した後、パテントブルーを心臓に注入し、虚血領域と非虚血領域を同定する。肉眼的に虚血領域を切離し、トリフェニルテトラゾリウム溶液に浸し、梗塞領域と非梗塞領域を同定し、心筋梗塞サイズを測定する。
- ⑤ Rho-kinase 阻害薬塩酸ファスジル、PDE III 阻害薬ミルリノン、オルプリノン、カルシウム感受性増強薬レボシメندانを虚血前または再灌流時に投与する。
- ⑥ 機序解明のため、PI3K-Akt、eNOS、PKC、KATP チャネルそれぞれの選択的阻害薬および mPTP 開口薬の前処置を行う

### (2)薬理的プレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果と COX-2 の関連

上記(1)の①~④を同様に行う。虚血前に COX-2 阻害薬 NS398 を静脈内投与し、吸入麻酔薬セボフルランまたは PDE III 阻害薬オルプリノンを虚血前または再灌流時に投与する。

### (3)ブタ心筋虚血再灌流モデルを用いた薬理的プレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果とその機序の解明

- ① 豚をアルファクロラロース、フェンタニルで基礎麻酔後、気管切開を行い、麻酔器を装着し、調節呼吸とする。
- ② 胸骨を切開し、心臓を露出し、上行大

動脈に心拍出量測定用超音波血流プローブ、心尖部より左心室腔内へ左室圧測定用トランスドューサーカテーテルを留置する。

- ③ 頸動脈とLADの第一対角枝より末梢を剥離し、ヘパリン化の後に、冠灌流圧測定用ポートと超音波血流プローブ付き回路を用いて、頸動脈-LADバイパスを作製する。バイパス回路に冠灌流圧測定用トランスドューサーを装着する。LAD灌流領域に局所心筋短縮率測定用の一對の超音波クリスタルを植え込む。
- ④ 頸動脈-LADバイパス回路を遮断し、LAD灌流領域を12分間虚血にした後に90分間再灌流を行う
- ⑤ 心拍数、心拍出量、左室圧、左室内圧上昇速度、冠灌流圧、冠血流量を経時的に測定する。超音波クリスタルで局所心筋短縮率を測定し心収縮力の指標とする。
- ⑥ 再灌流後の心室頻拍、心室細動の出現率で再灌流性不整脈の評価を行う。
- ⑦ Rho-kinase 阻害薬塩酸ファスジルまたはPDEⅢ阻害薬ミルリノンに虚血前または再灌流時に投与する。

#### (4)心筋保護における内在性抗酸化機構の解析

- ① 4-acetamide-4'-maleimideylstilbene-2,2'-disulfonic acid (AMS) による遊離SH基の修飾法により、GAPDHがGRXにより酸化還元状態が制御されていることが示唆されるデータを得ている。
- ② H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>投与下にH9c2-GRXおよびH9c2-vectorの細胞内GAPDH活性を測定し、酸化還元状態との関与について検討する。
- ③ さらに大腸菌を用いてシステイン残基をセリンに置換した変異GAPDHタンパクを精製し、in vitroにおける酵素活性と酸化還元状態を解析する。
- ④ 通常は細胞質内に存在しているGAPDHが核へ移行することにより、アポトーシスを生じることが知られている。免疫染色法を用いて、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>投与下におけるGAPDHの局在を明らかにする。さらに変異ベクターを用いて、細胞内に変異GAPDHを発現させた後にH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>投与を行い、GAPDHの酸化還元状態が核移行に与える影響について検討する。

#### 4. 研究成果

(1)ラット心筋梗塞モデルを用いて、ホスホジエステラーゼⅢ阻害薬であるオルプリノンのプレコンディショニング効果とその機序について検討した。オルプリノンの虚血前投与は心筋梗塞サイズを縮小させ、その効果はPI3K-Akt阻害薬、mPTP開口薬で抑制されることが明らかとなった。この成果は *J Anesth* 21(2):176-80, 2007 に掲載された。

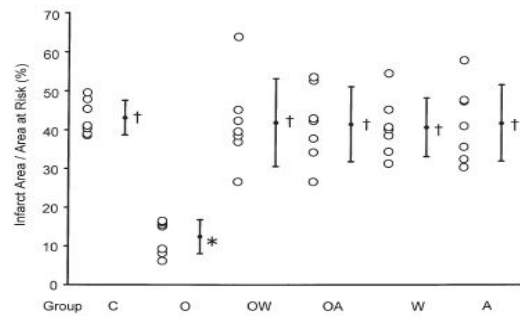


Fig. 2. Myocardial infarct sizes expressed as percentages of the left-ventricular area at risk. Group C, control group; group O, olprinone group; group OW, olprinone + wortmannin group; group OA, olprinone + atractyloside group; group W, wortmannin group; group A, atractyloside. \* ( $P < 0.05$ ), significantly different from group C; † ( $P < 0.05$ ), significantly different from group O

(2) ラット急性心筋梗塞モデルを用いて、PDEⅢ阻害薬ミルリノンとカルシウム感受性増強薬レボシメンダンのポストコンディショニング効果およびPKCとの関連について検討した。ミルリノンおよびレボシメンダン共にポストコンディショニング効果を発揮することを認めた。PKCはレボシメンダンの保護効果に関与するが、ミルリノンの保護効果には関与しないことが明らかとなった。この成果は *Anesthesiology* 113: A906, 2010 に掲載された。

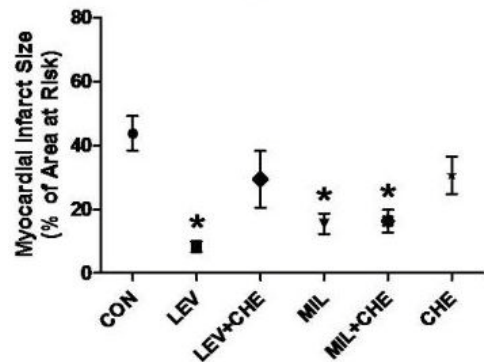
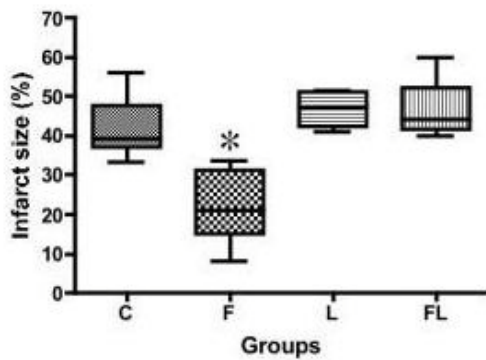


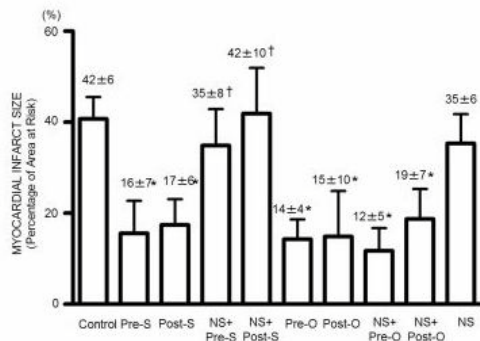
Fig. 1. Myocardial infarct size in each group. CON = control; LEV = levosimendan; MIL = milrinone; CHE = chereythrine; protein kinase C inhibitor; Data are mean  $\pm$  SE. \* Significantly ( $P < 0.05$ ) different from CON

(3) ラット心筋梗塞モデルを用いて、Rho-kinase 阻害薬ファスジルのポストコンディショニング効果とその機序について検討した。ファスジルの虚血後投与は心筋梗塞サイズを縮小させ、その効果はeNOS阻害薬で抑制されることが明らかとなった。この成果は *Anesthesiology* 113: A914, 2010 に掲載された。



The infarct size in each group. The size was expressed as percentage of area at risk (AAR). Values are mean  $\pm$  SD (n = 9 for each group). Group C: Control group. Group F: Fasudil hydrochloride group. Group L: L-NAME group. Group FL: Fasudil hydrochloride + L-NAME group. \* P < 0.05 versus control group.

(4) 吸入麻酔薬セボフルランおよび PDEⅢ阻害薬オルプリノンのプレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果と COX-2 の関連について検討した。セボフルランのプレおよびポストコンディショニング効果ともに COX-2 阻害薬で抑制された。しかし、オルプリノンは影響されなかった。この成果は Anesthesiology 113: A919, 2010 に掲載された。



Myocardial infarct size expressed as a percentage of the left ventricular area at risk. NS = NS-398, \* Significantly (P < 0.05) different from control group; †Significantly (P < 0.05) different between Pre-S and NS+Pre-S; ‡Significantly (P < 0.05) different between Post-S and NS+Post-S.

(5) 急性装置埋め込みブタを用いて、ホスホジエステラーゼⅢ阻害薬ミルリノンの虚血再灌流障害に対する心筋保護作用の機序について検討した。p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) 阻害薬の前処置によりミルリノンの心筋スタニングからの回復の改善が抑制されたことにより、ミルリノンの保護作用には p38MAPK の活性化が関与することが明らかとなった。この成果は Anesthesiology 107: A626, 2007 に掲載された。

(6) 急性装置埋め込みブタを用いて、Rho-kinase 阻害薬塩酸ファスジルが虚血再灌流障害である心筋スタニングからの回復に与える影響について検討した。ファスジルの虚血前および再灌流直後投与は心筋スタニングからの回復を有意に改善するが、虚血再灌流 30 分後からの投与では改善しないことが明らかとなった。この成果は Cardiovascular Drugs and Therapy 22: 293-8, 2008 に掲載された。

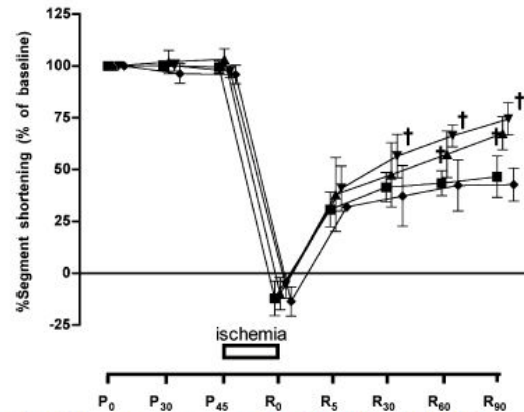


Fig. 2 Recovery of percent segment shortening (%SS). Values are expressed as mean  $\pm$  SD. †p < 0.05 vs group A. Square Group A, triangle group B, inverted triangle group C, and diamond group D. P<sub>0</sub> Baseline, P<sub>30</sub> 30 min after administration of fasudil, P<sub>45</sub> 15 min after discontinuation of fasudil and just before ischemia, R<sub>0</sub> just before reperfusion, R<sub>5</sub>, R<sub>30</sub>, R<sub>60</sub>, and R<sub>90</sub> 5, 30, 60, and 90 min after reperfusion, respectively

(7) ラット心筋より分離培養した H9c2 細胞を用いて、Glutaredoxin (GRX) の持つ抗アポトーシス効果と解糖系酵素である glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) との関連について検討した。GRX の NO 誘導アポトーシスに対する細胞保護効果に GAPDH の抑制が関与することを明らかにした。この成果は Anesthesiology 109: A542, 2008 に掲載された。

## 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 25 件)

1. Tosaka S, Tosaka R, Matsumoto S, Maekawa T, Cho S, Sumikawa K: Roles of cyclooxygenase 2 in sevoflurane- and olprinone-induced early phase of preconditioning and postconditioning against myocardial infarction in rat hearts. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2010 査読有
2. Ayuse T, Mishima K, Oi K, Ureshino H, Sumikawa K: Effects of nitric oxide donor on hepatic arterial buffer response in anesthetized pigs. J Invest Surg. 23(4):183-9, 2010 査読有

3. Akiyama D, Hara T, Yoshitomi O, Maekawa T, Cho S, Sumikawa K: Postischemic infusion of sivelestat sodium hydrate, a selective neutrophil elastase inhibitor, protects against myocardial stunning in swine. *J Anesth.* 24(4):575-81, 2010 査読有
4. Tosaka R, Tosaka S, Cho S, Maekawa T, Hara T, Sumikawa K: Direct effect of mild hypothermia on the coronary vasodilation induced by an ATP-sensitive K channel opener, a nitric oxide donor and isoflurane in isolated rat hearts. *J Anesth.* 24(4):564-8, 2010 査読有
5. Sumikawa K: Preoperative evaluation, preparation and outcome prediction. II: preface and comments. *Masui.* 59(9):1086-8, 2010 査読有
6. Hara T, Sumikawa K: Preoperative evaluation of patients with low cardiac function *Masui.* 59(7):849-53, 2010 査読有
7. Hara T, Sumikawa K: Preoperative evaluation of patients with ischemic heart disease. *Masui.* 59(7):844-8, 2010 査読有
8. Shibata I, Yoshitomi O, Sakai K, Cho S, Sumikawa K: A p38 MAPK inhibitor blocks cardioprotective effect of post-ischemic administration of milrinone. *Anesthesiology* 113: A095, 2010 査読有
9. Sakai K, Shibata I, Ureshino H, Cho S, Sumikawa K: Effects of hydrogen on the experimental myocardial stunning and infarction in swine. *Anesthesiology* 113: A681, 2010 査読有
10. Maekawa T, Ichinomiya T, Matsumoto S, Cho S, Sumikawa K: Fasudil exerts postconditioning against myocardial infarction through eNOS activation. *Anesthesiology* 113: A914, 2010 査読有
11. Higashijima U, Cho S, Matsumoto S, Ureshino H, Sumikawa K: The role of protein kinase C in milrinone- and levosimendan-induced postconditioning in rat hearts. *Anesthesiology* 113: A906, 2010 査読有
12. Tosaka S, Tosaka R, Maekawa T, Cho S, Sumikawa K: Role of cyclooxygenase-2 on pharmacological pre- and postconditioning against myocardial infarction. *Anesthesiology* 113: A919, 2010 査読有
13. Matsumoto S, Cho S, Tosaka S, Ureshino H, Maekawa T, Hara T, Sumikawa K: Pharmacological preconditioning in type 2 diabetic rat hearts: the roles of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels and the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Cardiovasc Drugs Ther.* 23(4):263-70, 2009 査読有
14. Higashijima U, Cho S, Matsumoto S, Ureshino H, Sumikawa K: Differential mechanisms of milrinone- and levosimendan-induced postconditioning in rat hearts. *Anesthesiology* 111: A755, 2009 査読有
15. Sumikawa K: Usefulness and limitation of new circulatory monitoring: introduction. *Masui.* 58(7):818-9, 2009 査読有
16. Shibata I, Yoshitomi O, Maekawa T, Hara T, Cho S, Sumikawa K: The impact of administration time of milrinone, a phosphodiesterase III inhibitor, to protect swine myocardium against ischemia-reperfusion injury. *Masui* 58: Q10-02, 2009 査読有
17. Yoshitomi O, Maekawa T, Makita T, Sumikawa K: Effect of low-dose landiolol hydrochloride on atrial fibrillation after cardiovascular surgery in patients with low left ventricular function. *Masui* 58: P1-20-01, 2009 査読有
18. Shibata I, Yoshitomi O, Use T, Ureshino H, Cho S, Maekawa T, Hara T, Sumikawa K: Administration of the Rho-kinase inhibitor fasudil before ischemia or just after reperfusion, but not 30 min after reperfusion, protects the stunned myocardium in swine. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 22: 293-8, 2008 査読有
19. Inadomi C, Ihara Y, Murata H, Sumikawa K, Kondo T : Cardioprotective effects of glutaredoxin 1 induced by suppressing S-nitrosylation of GAPDH. *Anesthesiology* 109: A542, 2008 査読有
20. Sakai K, Cho S, Shibata I, Yoshitomi O, Ureshino H, Sumikawa K: Inhaled hydrogen improves regional myocardial contractility after transient ischemia in swine. *Anesthesiology* 109: A313, 2008 査読有
21. Tosaka R, Cho S, Sumikawa K: Administration of olprinone reduces ischemia-reperfusion injury of rat liver via PI3K/Akt pathway. *Anesthesiology* 109: A308, 2008 査読有
22. Tosaka S, Makita T, Tosaka R, Maekawa T, Cho S, Hara T, Ureshino H, Sumikawa K: Cardioprotection by olprinone, a phosphodiesterase III inhibitor, involves phosphatidylinositol-3-OH kinase-Akt and a mitochondrial permeability transition pore during early reperfusion. *J Anesth* 21(2):176-80, 2007 査読有

23. Yoshitomi O, Hara T, Shibata I, Cho S, Sumikawa K: Role of p38 MAPK in the cardioprotective effect of milrinone against myocardial stunning in swine. *Anesthesiology* 107: A626, 2007 査読有
24. Maekawa T, Tosaka S, Use T, Cho S, Sumikawa K: Fasudil Exerts Postconditioning Against Myocardial Infarction through PI3K Activation in Rats.? *Anesthesiology* 107:A612, 2007 査読有
25. Miyoshi H, Ureshino H, Cho S, Sumikawa K: Mechanism of Protective Effect of Olprinone Against Renal Ischemia?Reperfusion Injury in Rats. *Anesthesiology* 107:A870, 2007 査読有

〔学会発表〕 (計 7 件)

1. Matsumoto S: Differential effects of hyperglycemia on milrinone- and levosimendan-induced postconditioning. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2010.10.17 San Diego
2. Tosaka R: Olprinone protects rat liver against ischemia-reperfusion injury via PI3K/Akt and nitric oxide. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2010.10.18 San Diego
3. Higashijima U: Differential mechanisms of milrinone- and levosimendan-induced postconditioning in rat hearts. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2009.10.19 New Orleans
4. Shibata I: Milrinone administered just after but not 20 min after reperfusion protects against myocardial stunning in swine. AACA 2009.7.3 Malaysia
5. Matsumoto S: Cardiac preconditioning by olprinone is not attenuated by the mitochondrial KATP channel antagonist. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2008.10.18 Orlando
6. Shibata I: Fasudil administered immediately but not 30 min after reperfusion improves myocardial stunning. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2007.10.22 San Francisco
7. Tosaka S, Tosaka R, Maekawa T, Cho S, Sumikawa K: COX-2 Is Involved in Sevoflurane but Not Olprinone Cardioprotection Against Myocardial Infarction. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2007.10.22 San Francisco

〔図書〕 (計 5 件)

1. 澄川耕二 (天羽敬祐監修) 総合医学社 麻酔科学レビュー2010 2010 9-13
2. 澄川耕二 (天羽敬祐監修) 総合医学社 麻酔科学レビュー2009 2009 8-12
3. 澄川耕二 (天羽敬祐監修) 総合医学社 麻酔科学レビュー2008 2008 8-12
4. 土肥修司、澄川耕二 南山堂 TEXT 麻酔・蘇生学 (改訂 3 版) 2008 79-119
5. 澄川耕二 (天羽敬祐監修) 総合医学社 麻酔科学レビュー2007 2007 7-11

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

澄川 耕二 (SUMIKAWA KOJI)  
 大学院医歯薬学総合研究科・教授  
 研究者番号：60028660

(2)研究分担者

趙 成三 (CHO SUNGSAM)  
 長崎大学病院・講師  
 研究者番号：90325655

三好 宏 (MIYOSHI HIROSHI)  
 長崎大学病院・助教  
 研究者番号：90332858

吉富 修 (YOSHITOMI OSAMU)  
 長崎大学病院・助教  
 研究者番号：30380926

(3)連携研究者

( )  
 研究者番号：