

## 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 6月 1日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580137

研究課題名（和文）食餌因子によるホモシステイン代謝の調節機構に関する研究

研究課題名（英文）Studies on the regulation of homocysteine metabolism by dietary factors

## 研究代表者

杉山 公男（SUGIYAMA KIMIO）

静岡大学・農学部・教授

研究者番号：00126781

研究成果の概要（和文）：血漿ホモシステイン（Hcy）濃度は動脈硬化の独立した危険因子として知られている。本研究は、Hcy 代謝に及ぼすいくつかの食餌因子（タンパク質、メチオニン、コリン、葉酸など）をとりあげ、ラットを実験動物として用い、それらの作用機構を明らかにしようとしたものである。本研究で、Hcy 代謝はいくつかの食餌因子により固有の様式で大きく影響を受ける仕組みが明確にされた。

研究成果の概要（英文）：Plasma homocysteine (Hcy) is an independent risk factor for cardiovascular disease. This study was conducted to clarify the mechanism by which several dietary factors, such as protein, methionine, choline, folate, affect Hcy metabolism using rats as experimental animals. The results of the present study clearly showed that Hcy metabolism was largely influenced by several dietary factors through different mechanisms.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：ホモシステイン、含硫アミノ酸、動脈硬化、食餌因子

## 1. 研究開始当初の背景

ホモシステイン（Hcy）はメチオニン（Met）代謝の中間体であるが、近年、疫学のおよび実験的な調査結果から血漿 Hcy 濃度の上昇は独立した動脈硬化の危険因子として広く認識されるようになった。Hcy はシステイン（Cys）など他の SH 化合物とは異なり、動脈壁細胞に対して直接・間接的に働き掛けて動脈硬化を促進することが実験的に示されてお

り、動脈硬化に関してはよく知られた血漿コレステロール濃度よりも関心が集まりつつある。ヒトの血漿 Hcy 濃度は通常 5～15 $\mu$ M の範囲内にあり、5 $\mu$ M の上昇は動脈硬化の危険率を 60～80%高めると推定されている。

これまでに種々の疾病やホルモン、ビタミン欠乏などと血漿 Hcy 濃度との関係について多くの研究がなされているが、血漿 Hcy 濃度を低値に維持するための栄養・食餌条件につ

いては十分には明らかにされていない。これらは栄養学上の重要な検討課題であると考えられる。

## 2. 研究の目的

私達は「タンパク質・アミノ酸の代謝と栄養」を大きな研究テーマとして研究を行っており、その研究の一環として、「Hcy 代謝の栄養・食餌条件による制御」に取り組んでいる。私達のこれまでの研究による知見を要約すると、①Hcy 代謝研究に有用なラットを用いた実験的高 Hcy 血症モデルをいくつか確立した、②高 Hcy 血症は食餌へのある種のアミノ酸 (Gly, Ser, Cys)、コリン、エリタデニンなどの添加や食餌タンパク質レベルの上昇で改善しうることを、③高タンパク質食投与は Hcy の前駆体である Met の摂取を増加させるにも拘わらず血漿 Hcy 濃度をむしろ低下させること、④小麦グルテンなどのタンパク質は血漿 Hcy 濃度を低下させること、⑤Hcy 代謝酵素の 1 つであるシスタチオン合成酵素 (CBS) 活性は食餌タンパク質を増加させると上昇するが、食餌に Met を添加しても上昇しないことなどである。

しかし、Hcy 代謝に関してはまだ明らかにすべき重要な点が残されている。例えば、③は Met の生理作用という点で興味深いパラドックスであるが、その機構の詳細については未だ不明な点が多い。また、⑤は含硫アミノ酸代謝に関わる酵素の性質としてはいささか「異常」であり、その意味するところに興味もたれる。そこで本研究では、Hcy 代謝酵素の栄養・食餌条件による活性調節機構に焦点を当てながら、Hcy 代謝酵素の活性変化と血漿 Hcy 濃度との関係を詳しく検討しようとした。そのために、Hcy 代謝に影響を及ぼすいくつかの食餌因子 (タンパク質、メチオニン、コリン、葉酸など) をとりあげ、これらの作用機構を詳しく検討しようとした。

## 3. 研究の方法

(1) CBS を誘導する食餌因子の同定と生理的意義 : CBS は Hcy をメチオニンサイクルから離脱させシスタチオン合成する反応を触媒する酵素で、Met および Hcy 代謝の鍵酵素の 1 つである。CBS は高タンパク質食投与で活性が上昇するが、低タンパク質食に Met を添加しても活性上昇が見られないことを私達は観察している。そこで、タンパク質のどんな因子が CBS 活性の上昇をもたらすのか、その生理的意義は何かを明らかにする。私達は「アミノ酸を比較的多量に摂取すると窒素代謝が亢進し、その際に生じるアンモニアを中和するために CBS 活性が上昇して下流でより多くの硫酸を生成させるという意味もある」との作業仮説を立てており、これも検証する。

CBS の性質を明らかにすることは Hcy 代謝の全体像を理解するために是非とも必要である。私達は、CBS は食餌タンパク質含量に応答するが食餌 Met 含量にほとんど応答しないことを確認するとともに、これまでの予備的な実験で、低タンパク質食にグルタミン酸のような非必須アミノ酸を添加するだけでも CBS 活性は有意に上昇することを観察している。そこで、CBS はどのような因子 (アミノ酸) により活性が上昇するのか、また誘導も受けるのかを次のような実験で明らかにしようとした。①10%カゼイン食 (10C) に 30%カゼイン類似アミノ酸混合 (30CAA)、Met を含まない 30CAA、30CAA に含まれる必須アミノ酸のみ、30CAA に含まれる非必須アミノ酸のみ、を添加してラットに 2 週間間摂取させ、肝臓の CBS 活性および mRNA 量に及ぼす影響を検討した。②食餌タンパク質に多く含まれるのは分岐鎖アミノ酸と酸性あるいはアミド型アミノ酸である。そこで、10C にアミノ酸群 (分岐鎖アミノ酸、アミド型アミノ酸) を比較的多量 (12%) に添加してラットに 2 週間自由摂取させた。解剖後、血漿 Hcy および Cys 濃度、肝臓 S-アデノシルメチオニン (SAM)、S-アデノシルホモシステイン (SAH)、Hcy などの Met 代謝中間体濃度、肝臓の CBS (cystathionine  $\beta$ -synthase), BHMT (betaine:homocysteine S-methyltransferase), MS (methionine synthase) 活性とこれらの酵素の mRNA 量、さらにこれらの酵素の基質 (セリン、ベタイン、5-Methyltetrahydrofolate (5-MTHF)) 濃度を測定し、CBS 活性および mRNA 量に及ぼす影響を検討した。また、CBS 活性が明確に上昇した群についてウエスタン・ブロットにより CBS タンパク質量を定量し、「酵素誘導」の確認を行った。

これらの結果から、「CBS は Met の摂取量ではなく全アミノ酸の摂取量の影響を受けて変化するのではないか」との考え方を検証するとともに、血漿 Hcy 濃度と CBS 活性との関係を検討した。そして、「高タンパク質食は Met 摂取を増加させるが CBS の誘導を介して血漿 Hcy 濃度の上昇を抑制する」との考え方を検証した。

(2) Hcy 代謝酵素活性および血漿 Hcy 濃度に及ぼす Met とコリンの影響のちがいを : Met とコリンはホスファチジルコリン (PC) 合成の材料であり、両者は相補性があるとされている。しかし、血漿 Hcy 濃度に対する影響は両者で大きく異なり、また、食餌タンパク質レベルなどの栄養・食餌条件にも左右されることを私達は観察し、「標準 (高) タンパク質食でのコリン欠乏は Met 添加で改善できるが、低タンパク質食でのコリン欠乏は Met 添加では十分に改善できず、コリン欠乏による高 Hcy 血症も抑制できない」との作業仮説を

立てた。これは低タンパク質食ではコリンが必須であるという新しい考え方を提示するものである。この仮説を検証し、その機構を解明しようとした。

血漿 Hcy 濃度に影響を及ぼす食餌因子としてコリンがある。私達はコリン欠乏による高 Hcy 血症モデルを初めて報告した。コリンはビタミンではなくビタミン様物質として認識されているが、Met のメチル基を用いた PC 合成でコリンを供給できることが背景にある。私達は予備的な検討で、低タンパク質食からコリンを除くと Met を添加してもコリン欠乏に起因する高 Hcy 血症を改善できないことを観察している。そこで、この機構を明らかにするために、次のような実験を行った。①コリン添加および無添加の 10%カゼイン食 (10C) に 0.5%Met を添加あるいは添加しない食餌、また比較のためにコリン添加および無添加の 30%カゼイン食 (30C) をラットに 2 週間自由摂取させ、血漿 Hcy、肝臓の中性脂肪やベタイン濃度等の各種パラメータを測定した。なお、10C+0.5%Met の Met 含量は 30C と同じである。この実験で、コリンを含まない食餌は低タンパク質食 (10C) でのみコリン欠乏をもたらす、低タンパク質食でのコリン欠乏は Met 添加により十分に改善されないこと、およびその原因を明確にしようとした。②同様な実験条件で、Met の効果を Ser と組み合わせることで添加した効果を検討した。③10C に Met 単独添加、Met+Ser+Gly 添加、Met+Ser+Gly に加えて BCAA+Glu+Asp を添加した食餌をラットに投与し、食餌タンパク質レベルの高いことがコリン欠に対する抵抗性をもたらす原因を明らかにしようとした。これらの実験結果から「低タンパク質食の条件下ではコリンは必須である」との作業仮説を検証した。

(3) Hcy 代謝酵素活性および血漿 Hcy 濃度に及ぼす葉酸とコリンの相補性：葉酸欠乏による高 Hcy 血症はよく知られているが、コリン欠乏も高 Hcy 血症をもたらすことを私達は見出している。一方、コリン投与はベタイン生成を促進し、ある種の高 Hcy 血症を抑制することも見出している。しかし、葉酸欠乏による高 Hcy 血症をコリン投与が改善できるかどうか、逆にコリン欠乏による高 Hcy 血症を葉酸投与が改善できるかどうかは不明である。そこで、この点を詳しく検討しようとした。

葉酸とコリンはそれぞれ 5-MTHF とベタインの前駆体である。MTHF とベタインは Hcy の再メチル化のメチル基供与体であることから、葉酸とコリンの相補性が指摘されているが、血漿 Hcy 濃度との関係においての研究はほとんど見当たらない。そこで、葉酸欠乏による高 Hcy 血症に及ぼすコリン投与の効果とコリン欠乏による高 Hcy 血症に及ぼす葉酸投

与の効果を検討し、葉酸とコリンは果たして互いに補い合って欠乏による高 Hcy 血症を抑制しうるかどうかを明らかにしようとした。Ser は C1 ユニットの主な供給源なので、葉酸+Ser の効果も検討した。私達の予備的な検討では、葉酸欠乏による高 Hcy 血症はコリンの多量投与でも十分に改善されない結果を得ている。ベタインから生ずるジメチルグリシン (DMG) はメチルグリシン、グリシンへと代謝されるが、これらの反応には葉酸が関与するので葉酸欠乏下では反応が円滑に進まない可能性がある。また、DMG は BHMT が関与する Hcy の再メチル化を阻害することが知られている。これが葉酸欠乏による高 Hcy 血症をコリン (あるいはベタイン) が十分改善できない原因と私達は推定しているため、これを検証しようとした。一方、コリン欠乏による高 Hcy 血症を葉酸+Ser の投与で改善できるかどうかは不明であり、実験で明らかにしようとした。葉酸欠乏食にはビタミン・フリーカゼイン、葉酸を含まない AIN-93 ビタミン混合、スルファチアゾール (抗菌剤) などを用い、ラットを 4 週間飼育する。分析項目は肝臓の Hcy 代謝に関わる 3 種類の酵素活性、Met 代謝中間体濃度、酵素の基質濃度などである。

(4) ベタイン-Hcy S-メチル転移酵素 (BHMT) とメチオニン合成酵素 (MS) の活性調節機構の解析：BHMT は Hcy の再メチル化に関与する酵素であるが、CBS と異なり食餌タンパク質および Met レベルの上昇に応答して活性は上昇することを私達は観察している。一方、MS も Hcy の再メチル化に関与する酵素であるが、その挙動は BHMT と対照的で食餌タンパク質および Met レベルの上昇に応答して活性は低下する。BHMT と MS の活性調節、特に食餌 Met の影響について詳しい解析を行い、これらの酵素の性質と Hcy 代謝における役割を明らかにしようとした。

BHMT と MS は Hcy の再メチル化に関与する酵素であるが、その活性調節は明確でない点も多い。例えば、高 Met 食投与で BHMT 活性は上昇するのに対し MS 活性は低下することが報告されているが、その機構と生理的意義 (特に血漿 Hcy 濃度との関連) は十分に理解されていない。そこで、これらの酵素活性に及ぼす食餌 Met レベルの影響を詳しく検討する。10%カゼイン食をコントロール食とし、これに Met を 0.25, 0.5, 0.75, 1.0%添加した食餌をラットに 2 週間自由摂取させ、肝臓の BHMT と MS の活性、mRNA、Met 代謝中間体濃度、酵素の基質濃度、血漿 Hcy 濃度などを測定した。

#### 4. 研究成果

(1) CBS を誘導する食餌因子の同定と生理

的意義：食餌カゼイン含量を増加させると（例えば 10%から 40%に）肝臓 CBS 活性は有意に上昇するが、10%カゼイン食（10C）に 40%カゼイン食（40C）と同量になるようにアミノ酸混合を添加した場合にも CBS 活性は有意に上昇し、これは Met を含まないアミノ酸混合を添加した時も同様であった。また、10C に分岐鎖アミノ酸（Val, Leu, Ile）混合あるいはアミド型アミノ酸（Gln, Asn）混合を添加した場合にも CBS 活性は有意に上昇し、両者を同時に添加した場合には高い上昇を示した。肝臓 CBS 活性の上昇は mRNA 量の増加を伴っており、また、酵素量の増加を伴うことがウエスタン・プロットの結果で確認された。一方、食餌中の Met 含量を比較的高いレベルで一定にしたラット群間では血漿 Hcy 濃度は肝臓 CBS 活性と有意な負の相関を示した。

これらの結果は、肝臓 CBS は Met 由来の Hcy を代謝する酵素であるにも拘らず、食餌中の Met 含量の影響をほとんど受けず、むしろアミノ酸の総摂取量の影響を受けることを示している。私達は先に、高タンパク質食は低タンパク質食に比べて Met 摂取量を増加させるが血漿 Hcy 濃度をむしろ低下させることを観察しているが、その現象の背後には高タンパク質食が CBS 活性を上昇させ Hcy の代謝を円滑にするという機構が存在することを強く示唆している。加えて、高タンパク質は Met 代謝を円滑に進めるアミノ酸（Ser, Gly）の摂取も高めることになり、少なくともこれら 2 つの理由で高タンパク質食の効果をかなり説明できることが分かった。

(2) Hcy 代謝酵素活性および血漿 Hcy 濃度に及ぼす Met とコリンの影響のちがい：低カゼイン質食（10C）からコリンを除くと PC 欠乏による脂肪肝の生成とベタイン欠乏による血漿 Hcy 濃度の上昇が見られるが、やや高めのカゼイン質食（30C）からコリンを除いてもそのような現象は全く見られない。コリン欠の 10C に 30C と同 Met レベルになるように 0.5%Met を添加しても血漿 Hcy 濃度の上昇は全く抑制されなかった。このことは標準あるいは高カゼイン食のコリン欠に対する抵抗性は食餌中の Met 含量だけに依存している訳ではないことを示している。興味深いことに、10C に 0.5%Met とともに比較的多量の Ser（2.5%）を添加すると血漿 Hcy 濃度の上昇は完全に抑制され、また脂肪肝も抑制された。さらにコリン欠に対する抵抗性には他の因子も関与する可能性を検討し、分岐鎖アミノ酸と酸性アミノ酸を 10C に添加することにより食餌アミノ酸含量を高めると血漿 Hcy 濃度はより低下することが示された。

これらの結果から、標準あるいは高カゼイン食のコリン欠に対する抵抗性には少なくとも 3 つの要因が関与することが明らかにされた。すなわち、(i)食餌 Met 含量、(ii)

食餌 Ser+Gly 含量、(iii)食餌総アミノ酸含量、である。Met はメチル化経路での PC 合成に必須のアミノ酸であり、Ser+Gly は Met の円滑な代謝に必要な非必須アミノ酸である。これらに加えて食餌タンパク質含量が高いこと自体もアミノ酸の摂取量を高めて CBS 活性を高値に維持するのに役立ち、これも無視できない要因であることが明らかにされた。

(3) Hcy 代謝酵素活性および血漿 Hcy 濃度に及ぼす葉酸とコリンの相補性：葉酸欠乏食をラットに投与すると血漿 Hcy 濃度は有意に上昇するが、葉酸欠乏食にベタインを 1%添加すると血漿 Hcy 濃度の上昇は有意に抑制されるものの、その抑制は部分的であった。ベタイン（コリンも同様）投与は肝臓ベタイン濃度を上昇させ、BHMT 反応を亢進させて血漿 Hcy 濃度の低下をもたらすものと考えられる。しかし、葉酸欠乏という条件下では 1%というかなり高レベルのベタイン投与でもその効果は十分ではないことが分かった。肝臓の DMG 濃度は葉酸欠乏食投与で顕著に上昇した。従って、葉酸欠乏による DMG 濃度の上昇が BHMT 反応を抑制し（DMG は BHMT の阻害剤）、ベタインの効果を低下させるという図式が明確にされた。また、標準カゼイン食である 20C からコリンを除いても高 Hcy 血症は全く見られないが、葉酸欠の 20C からコリンを除くと顕著な高 Hcy 血症が見られた。これは葉酸欠とコリン欠を組み合わせると相乗的に血漿 Hcy 濃度を上昇させることを示している。

一方、コリン欠の 10C は高 Hcy 血症をもたらすが、コリン欠の 10C に葉酸を比較的高レベル（20 mg/kg diet）添加すると血漿 Hcy 濃度の上昇は有意に抑制されるものの、抑制の程度はごく部分的であった。この原因として、葉酸の比較的多量投与によって肝臓 MS 活性や 5-MTHF 濃度は上昇するものの、BHMT 反応による Hcy 代謝の capacity は MS 反応による Hcy 代謝の capacity に比べてもともと大きく（酵素活性で比較すると前者は後者の 4～5 倍）、BHMT 反応の低下をカバーできないことが考えられた。

Hcy の再メチル化反応には BHMT-Betaine 系と MS-5MTHF 系の 2 つがあるが、本研究結果は、1 つの系が障害された場合に他の系を亢進させるような処置では十分にカバーできないことを明確に示すものである。すなわち、Hcy の正常な代謝には 2 つの再メチル化反応が必須であることが実験的に確認された。

(4) ベタイン-Hcy S-メチル転移酵素 (BHMT) とメチオニン合成酵素 (MS) の活性調節機構の解析：肝臓 BHMT 活性は食餌（例えば 10C）に Met を段階的に添加すると用量依存的に上昇し、血漿 Hcy 濃度も用量依存的に上昇した。一方、肝臓 MS 活性は Met 添加で低下した。BHMT 活性は食餌 Met 含量に敏感に反応して変化するが、Met 添加により肝臓

のベタインと Ser 濃度はともに低下するので、この場合は血漿 Hcy 濃度の上昇を十分に抑制し得ないものと考えられる。また、10C に Cys を段階的に添加すると肝臓 BHMT 活性は用量依存的に上昇し、血漿 Hcy 濃度は逆に用量依存的に低下した。Cys 投与は血漿 Hcy 濃度を低下させるアミノ酸であり、いくつかの作用機構が考えられているが BHMT 活性の上昇もその一つと思われる。一方、食餌へのコリンの添加も用量依存的に BHMT 活性の上昇と血漿 Hcy 濃度の低下をもたらした。このように BHMT 活性は含硫アミノ酸 (Met と Cys) と基質の前駆体であるコリンにより誘導されるが (mRNA 量の増加を伴う)、Met の場合に見られるように血漿 Hcy 濃度との対応関係は必ずしも密接ではないようだ。含硫アミノ酸がなぜ BHMT を誘導させるのかについて、種々のパラメータと BHMT 活性との相関を調べたところ、肝臓 Cys 濃度と BHMT 活性との間に比較的高い相関が見られた。

Hcy 代謝に関与する 3 つの酵素 (BHMT, MS, CBS) の食餌含硫アミノ酸に対する挙動は 3 者 3 様である。BHMT は他の 2 つの酵素と異なり食餌 Met 含量の増加で誘導されるが、そのことの意味はなお解明すべき検討課題である。

#### 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 4 件)

- ① Liu Y, Liu Y, Morita T, and Sugiyama K: Methionine and serine synergistically suppress hyperhomocysteinemia induced by choline deficiency, but not by guanidinoacetic acid, in rats fed a low casein diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 査読有, Vol. 75, 2011, 2333-2339.
- ② Liu Y, Liu Y, Morita T, Mori M, and Sugiyama K: Effect of dietary supplementation with folate on choline deficiency-induced hyperhomocysteinemia in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 査読有, Vol. 58, 2012, 20-28.
- ③ Liu Y, Liu Y, Morita T, and Sugiyama K: Effects of betaine supplementation and choline deficiency on folate deficiency-induced hyperhomocysteinemia in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 査読有, Vol. 58, 2012, 69-77.
- ④ Liu Y, Liu Y, Morita T, Mori M, and Sugiyama K: Factors contributing to the resistivity of a higher casein diet against choline deficiency-induced hyperhomocysteinemia in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 査読有, Vol. 58, 2012, 78-87.

[学会発表] (計 9 件)

- ① 呉育如(発表者)他:高タンパク質食摂取が血漿ホモシステイン濃度を上昇させない機構について. 第 64 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 22 日(アクティード島).
- ② 劉穎(発表者)他:葉酸欠乏による高ホモシステイン血症に及ぼすベタインおよびコリンの効果. 第 64 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 22 日(アクティード島).
- ③ 劉軼群(発表者)他:血漿ホモシステイン濃度に及ぼすコリン欠乏の影響と食餌タンパク質レベルとの関係. 第 64 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 22 日(アクティード島).
- ④ 劉軼群(発表者)他:ベタイン欠乏を伴う高ホモシステイン血症に及ぼすメチオニンとセリン添加の影響. 第 63 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 21 日(長崎ブリックホール).
- ⑤ 呉育如(発表者)他:血漿ホモシステイン濃度に及ぼす食餌タンパク質の種類と量の影響. 第 63 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 21 日(長崎ブリックホール).
- ⑥ 大内誠也(発表者)他:タンパク質およびアミノ酸摂取量とラット肝臓 CBS 活性との関係. 第 63 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 21 日(長崎ブリックホール).
- ⑦ 劉軼群(発表者)他: BHMT 活性に影響を及ぼす食餌因子とホモシステイン代謝. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 15 日(お茶の水女子大学).
- ⑧ 劉穎(発表者)他:コリン欠乏による高ホモシステイン血症に及ぼす葉酸の効果. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 15 日(お茶の水女子大学).
- ⑨ 土屋諒(発表者)他:低メチオニン食へのシステイン添加による脂肪肝の生成について. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 14 日(お茶の水女子大学).

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

特になし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

杉山 公男 (SUGIYAMA KIMIO)

静岡大学・農学部・教授

研究者番号：00126781

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：