

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25年 5月28日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22370026

研究課題名（和文） プラナリアの有性化を誘導するD体トリプトファンの作用機構の解明

研究課題名（英文） Mechanisms underlying switching from asexual to sexual reproduction by D-Tryptophan in the planarian *Dugesia ryukyuensis*

研究代表者

小林 一也 (KOBAYASHI KAZUYA)

弘前大学・農学生命科学部・准教授

研究者番号：50360110

研究成果の概要（和文）： プラナリア *Dugesia ryukyuensis* では、無性個体に有性個体を餌として与えることで生殖様式を無性生殖から有性生殖へ転換させられる。このことは有性個体に有性化因子が含まれていることを意味している。本研究では卵巣誘導因子として同定されたD-Trpの生体内での局在に関わるDアミノ酸酸化酵素、DrDAOの機能解析を行なった。その結果、D-Trp以外に卵巣誘導に関わるD-アミノ酸を4種、同定した。また、D-Trpの受容体候補遺伝子として、卵巣付近の神経で特異的に発現する *Dr-5HTR1* をみつけた。そして、D-Trpとともに強い有性化活性を示す化合物の精製／単離の絞り込みに成功した。

研究成果の概要（英文）： Asexual planarians of *Dugesia ryukyuensis* can switch to the sexual mode if they are fed with sexual planarians of the different as well as the same species; this means that they contain sex-inducing substances that are not species-specific. In this study, we performed the functional analysis of Dr-DAO (D-amino acid oxidase in *D. ryukyuensis*) in order to examine the localization in a body of D-Trp, which we have already identified as an ovarian inducing substance. This revealed that the four D-amino acids other than D-Trp can induce the ovaries. We also isolated *Dr-5HTR1* as a candidate of receptor for D-Trp. Otherwise, we obtained a more purified fraction including D-Trp with a strong sex-inducing activity. D-Trp may give rise to a strong sex-inducing activity with the substances containing in the fraction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,800,000	1,740,000	7,540,000
2011年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2012年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：発生生物学

科研費の分科・細目：細目番号 5704：生物学-基礎生物学-形態・構造

キーワード：D体アミノ酸・トリプトファン・配偶子形成・生殖様式・プラナリア

1. 研究開始当初の背景

(1) プラナリア有性化系と有性化因子

扁形動物プラナリアのいくつかの種は、季節的に雌雄同体性の生殖器官の発達と退化

を繰り返し、発達時には有性生殖を、退化時には分裂による無性生殖を行なう。環境要因や世代によって無性生殖と有性生殖の転換現象は多くの動物で報告があるが、ほとんど

研究が進んでいない。その原因として、環境要因や世代による転換現象を研究室で再現することが困難であると考えられる。プラナリアでは無性個体に有性個体を餌として与えることで、無性個体が生殖器官を発達して、無性生殖の代わりに有性生殖を始めるようになることが知られている (Grasso and Benazzi, J. Embryo. Exp. Morphol., 1973)。このことは有性個体 (科レベルでの異種でも) に「有性化因子」が含まれていることを意味している。つまり、プラナリアでは環境要因や世代ではなく、化学物質の刺激で少なくとも無性生殖から有性生殖への切り替えを起こすことができるわけである。私達はこの有性化因子を明らかにすることで、生殖様式転換機構の解明の手がかりになると考え、おおよそ15年前から研究を続けている。

私達は分裂により増殖した *Dugesia ryukyuensis* 無性個体のクローン集団 (OH株) に有性種 *Bdellocephala brunnea* を餌として与えることによる有性化系を確立した (Kobayashi et al., Invert. Rep. Dev., 1999; Kobayashi et al., Zool. Sci., 1999, Kobayashi and Hoshi, Zool. Sci., 2002, Kobayashi et al., Zool. Sci., 2002a)。有性化系では約1ヶ月以内に、OH個体が、卵巣、精巣、交接器官、そして卵黄腺の順にこれらの生殖器官を作り上げる (図1)。

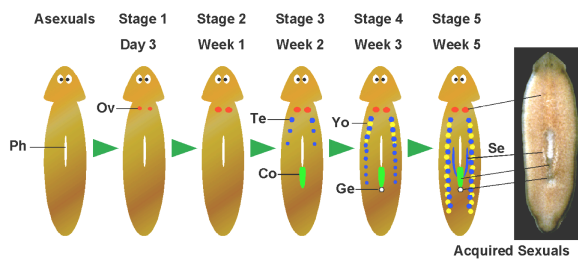


図1 有性化段階 (Co:交接器官, Ge:生殖孔, Ov:卵巣, Ph:咽頭, Se:貯精のう, Te:精巣,)

この有性化系を用い *Bd. brunnea* の水抽出物から有性化因子を探索した結果、未熟な卵巣を誘導する (ステージ2まで) 因子としてトリプトファン (Trp) を同定していた。また、*Bd. brunnea* に含まれている Trp はほとんどがL体であるが微量にD体も含まれており、卵巣誘導活性はD体はL体の約2000倍であることがわかってきた。興味深いことに、この単離されたD-Trp単一化合物では、卵巣の誘導しか起こらない (ステージ2) が、飢餓などの環境ストレスを与えつつD-Trpを投与すると、稀に完全に有性化を誘導できるという結果が得られていた。

(2) D-アミノ酸の生理活性と局在に関する分解酵素

近年の分析技術の向上により、動物でも、D-アミノ酸が遊離あるいはペプチド/タンパクとして結合態で広く存在することが明らかにされ、それらが様々な生理活性を持つことが報告されている (Sasabe et al., *EMBO J.*, 2007)。これらのD-アミノ酸の生体内での局在は、D-アミノ酸酸化酵素 (DAO: D-amino acid oxidase) などによって行なわれていると考えられており (Tanaka et al. *J. Biochem.* 2002, Kaneta et al., *FEBS J.*, 2007)、D-アミノ酸受容体とあわせて、これら2つの役者の発現/機能解析が、D-アミノ酸生理活性を理解する上での鍵となる。

卵巣誘導因子としてD-Trpが同定されたことから前述のDAOとD-アミノ酸の中でD-Trpを特異的に分解するTDO (Tryptophan 2,3-dioxygenase、LD-TrpをLD-ホルミルキヌレンニンにする) に注目したが、研究開始の時点ではプラナリアでのDAOとTDOの報告はなかった。先行研究としてOH株がDAO活性を持つことがわかっていたので、まずはDAO研究に重点を置くことにした。また、DAOによるD-Trp分解産物であるインドールピルビン酸をOH株に給餌しても有性化は起こらないことからD-Trpは直接、受容体を介して作用していると予想した。

本研究では、D-Trpの卵巣誘導活性に対して1/2000であるL-Trpの代謝にも注目した。L-Trpは、TDOによる分解経路を経るNADPH合成経路の他、TPH (Tryptophan hydroxylase) により1ステップでセロトニンが合成され、その後、メラトニンとなりうるセロトニン合成経路の2つの主要な代謝経路に入ることが予想される。プラナリアのTPHは本研究材料の近縁種、*D. japonica*で報告があり、実際にセロトニン合成に関与することが証明されている (Nishimura et al. *Neuro. Res.*, 2007)。

(3) D-Trpが関与する有性化ケミカルシグナルのモデル

D-Trp単独では、卵巣の誘導しか起こらないが (ステージ2)、D-Trp+環境ストレス (飢餓) は稀に卵巣以外の生殖器官を誘導する。このことは、D-Trp+環境ストレスによって誘導されるステージ3以降の生殖器官分化に関与する有性化因子の存在を示唆している。ステージ3以降に卵巣以外の生殖器官を誘導する有性化活性は *Bd. brunnea* のエタノール抽出物をさらに水/酢酸エチルで分配した場合、水層と有機層の双方に認められる。Trpは水層にほとんどが分配されると考えられる。つまり、Trpとともに完全有性化を成立させる有性化因子Xの存在が、水層だけな

く有機層にも含まれていることが示唆されていた。

卵巢の発達なしに精巣や卵黄腺が分化してくることがないことや *nanos* ホモログ遺伝子など、いくつかの遺伝子のノックダウンで精巣ができなくなると無性状態に戻ることを考えると、有性化現象は、Trp とステージ 3 以降に卵巢や精巣、そして卵黄腺から分泌される有性化因子 X との複合系ケミカルシグナルで成立している可能性が考えられる。

2. 研究の目的

プラナリア有性化を誘導する D-Trp の作用機構を解明するために、次の 3 項目について研究を行なった。

(1) D-Trp の局在／体内濃度を制御する分解酵素の解析 D-Trp の局在を明らかにする。また、プラナリアの DAO や TDO を同定し、D-Trp の局在と DAO や TDO の発現パターンや活性の強さに関連があるか調査する。D-Trp の活性調節を介した有性化の制御について明らかにする。

(2) D-Trp 受容体の同定 D-Trp の分子プローブを作製し、それを用いて D-Trp 受容体を単離・同定する。マウス血球にある G タンパク共役受容体が D-Trp の受容体として働く可能性が報告されている (Irukayama-Tomobe et al., *PNAS*, 2009)。プラナリアでこの G タンパク共役受容体 (GPR) ホモログ遺伝子を単離して、D-Trp 受容体として機能するのかを検証する。

(3) D-Trp 以外の有性化因子の単離・同定 ステージ 3 以降に働く有性化因子を単離・同定するために、量的供給が望まれる陸生プラナリア *Bipalium nobile* を材料にして有機溶媒抽出層に回収される有性化因子を単離・同定し、同一物質あるいは類似物質が *D. ryukyensis* に含まれるのか検証する。

3. 研究の方法

(1) D-Trp の局在／体内濃度を制御する分解酵素の解析 D-Trp の局在／体内濃度と有性化との関連を、DAO に注目して解析を進めた。DAO と TDO のホモログ遺伝子を単離し、dsRNA による遺伝子ノックダウンによる機能解析や融合タンパクの *in vitro* 活性試験を行なった。また、特異的阻害剤や酵素組織化学法を駆使して DAO の *in vivo* 活性調査を行なった。

(2) D-Trp 受容体の同定 D-Trp 分子プローブ作製し、プラナリアの D-Trp 受容体の単離を試みた。また、哺乳類の D-Trp 受容体ホモログを単離して、dsRNA による遺伝子ノッ

クダウンによる機能解析を行なった。

(3) D-Trp 以外の有性化因子の単離・同定 陸生プラナリアの有機溶媒抽出層に含まれる D-Trp 以外の有性化因子を単離・精製した。

4. 研究成果

(1) D-Trp の局在／体内濃度を制御する分解酵素の解析

① プラナリア DAO、Dr-DAO の機能解析 *Dr-DAO* の解析を行なった。その融合タンパクが DAO 活性を持つことが確かめられ、DAO として機能していることが証明された。一般に DAO 遺伝子はゲノム中に複数存在しているが、RNAi 法による *Dr-DAO* のノックダウン個体では、DAO 活性がほとんど認められなかったことから、*D. ryukyensis* では *Dr-DAO* が DAO 活性の中心的な役割を為しているといえる。

Dr-DAO の発現は無性個体ではプラナリア分化多能性幹細胞、ネオブラストが存在している間柔織領域で強く発現しているが、有性化が進むにつれて頭部と尾部のみでの発現となる。また、成熟した卵巢では発現していないが、有性化過程で一過的に卵巢での発現が認められた。定量 PCR 解析の結果、有性個体では *Dr-DAO* の発現は無性個体の約 1 / 5 であり、先行研究で示された有性個体での DAO 活性が無性個体の約 1 / 2. 5 であることと矛盾しない。

RNAi 法による *Dr-DAO* のノックダウン個体では、D-Trp の卵巢誘導活性を促進するだけでなく、D-Trp の投与なしに卵巢誘導が起こった。この結果は D-Trp も含めて *Dr-DAO* の基質となり、かつ卵巢誘導に関与する物質 (おそらく D-アミノ酸) が存在することを示唆する。私達は、有性個体の 80% aq. EtOH 抽出物を、有機溶媒各種で分配した有性化活性画分に融合タンパク *Dr-DAO* 処理することで有性化活性が低下することを明らかにし、この有性化活性画分には少なくとも D-Trp は含まれていることを確かめた (後述 (3))。また、D-Trp の他に D-アルギニン、D-フェニルアラニン、D-ロイシン、D-アスパラギンが無性個体に卵巢を (ステージ 2 まで) 誘導することが明らかとなった。無性個体では、これらの D-アミノ酸によってネオブラストから雌性生殖起源細胞が分化・増殖して未熟な卵巢が形成されぬように *Dr-DAO* が抑制していると考えられる。しかしながら、*Dr-DAO* のノックダウン個体では、卵巢成熟に抑制がみられ、結果的に有性化自体が抑制される結果となった。これは *Dr-DAO* の発現が一過的に

卵原細胞や卵母細胞で認められていることと矛盾しない。つまり、D-Trp を含めたいくつかの D-アミノ酸が卵巣成熟を抑制することが示唆された。本項目の成果は現在、論文としてまとめて投稿中である。

②有性個体における Trp 分布と代謝酵素についての検証 HPLC による分離と質量分析により *D. ryukyensis* の無性個体と有性個体に含まれている Trp 量を計測したところ、重量当たり約 2.6 倍、個体当たり約 1.2 倍多く有性個体に Trp が含まれていることがわかった。キラル解析では、D-Trp は重量比で L-Trp の 0.1% 含まれていた。D-Trp の局在を示すために D-Trp 抗体を用いて解析したが良好な結果は得られなかったが、LD-Trp 抗体では有性個体のみ存在している卵黄腺に強い染色が得られた。このことから、有性個体では卵黄腺に Trp が存在していると考えられる。有性個体が産卵した際の卵殻には卵黄腺細胞が大量に含まれていることに着目して、卵殻内容物から cDNA を作製し、Trp 代謝酵素に関して定量 PCR 解析を行なった (図 2)。

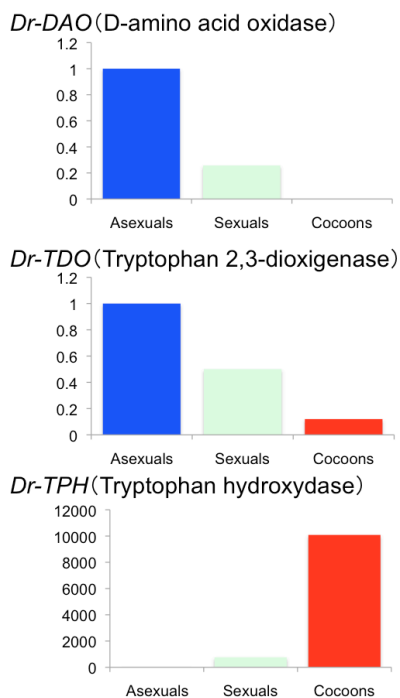


図 2 Trp 代謝酵素の定量 PCR 解析 (Asexuals: 無性個体 6 匹に由来する cDNA, Sexuals: 有性個体 6 匹に由来する cDNA, Cocoons: 卵殻 8 個に由来する cDNA)

Dr-DAO は卵黄腺ではほとんど全く発現していないことから、卵黄腺に取り込まれた D-Trp は *Dr-DAO* の分解から免れる環境にあると考えられる。本研究で *D. ryukyensis* の TDO ホモログ (*Dr-TDO*) と TPH ホモログ (*Dr-TPH*) の完全長を決定した。*Dr-TDO* は無性個体や有性個体に比べると弱いものの、卵

黄腺でも発現しているようである。*Dr-TDO* が TDO 活性を有しているかは証明に至っていない。仮に TDO として働いた場合、LD-Trp は LD-ホルミルキヌレニンを経て LD-キヌレニンとなる。LD-キヌレニンの無性個体への給餌では卵巣は誘導されなかった。LD-キヌレニンはその後、ナイアシンを経て NADPH 合成経路に入る可能性がある。ナイアシンの無性個体への給餌では Trp と同様に卵巣が誘導されることがわかった。興味深いことに、*Dr-TPH* が卵黄腺で驚くほど発現していることがわかった。*D. ryukyensis* の近縁種、*D. japonica* で *Dr-TPH* とアミノ酸配列レベルで 95% 以上ホモロジーのある *Dj-TPH* にセロトニン合成活性があることが証明されている (Nishimura et al. Neuro. Res., 2007)。このことから、卵黄腺で大量に含まれている L-Trp からは専ら、セロトニンが合成されていることが予想される (本研究から外れるが、神経系以外での TPH の高発現やセロトニン合成の可能性は新規の発見となる)。セロトニンはその後、メラトニンに代謝される可能性がある。セロトニンの無性個体への給餌で Trp と同様に卵巣が誘導されることがわかった。

(2) D-Trp 受容体の同定

①D-Trp 分子プローブによる D-Trp 受容体探索 慶應義塾大学医学部、末松教授、加部博士の協力を得て、ナノプローブ (Suzuki et al. Bioorg. Med. Chem., 2009) による D-Trp 分子プローブを作製して、受容体探索を試みたが良好な結果は得られなかった。

②哺乳類 D-Trp 受容体ホモログの単離と機能解析 プラナリアの D-Trp 受容体を単離・同定するため、哺乳類で D-Trp の受容体として実証されたナイアシン受容体 *GPR109b* に注目して、*D. ryukyensis* でのホモログ遺伝子の探索を行なった。探索には京都大学大学院理学研究科、阿形教授が有する *D. japonica* の seven transmembrane database を用いた。ホモロジーの高いプラナリア GPR の上位 4 遺伝子 (*Dr-506*, *Dr-5HTR1*, *Dr-227*, *Dr-206*) の部分配列を決定した (*Dr-5HTR1* は全長決定)。*Dr-5HTR1* と *Dr-206* はセロトニン受容体候補遺伝子であった。*In situ* ハイブリダイゼーション解析により、*Dr-5HTR1* のみが卵巣付近の神経組織で強く発現していることがわかった。RNAi 法による *Dr-5HTR1* のノックダウン個体では D-Trp による卵巣形成を阻害することがわかった。このことは *Dr-5HTR1* が D-Trp の受容体候補遺伝子であることを示唆する。先述のように、ナイアシンやセロトニンでも卵巣誘導が起こることから、*Dr-5HTR1*

がこれらの化合物の受容体となる可能性も考えられる。今後、電気生理学的手法で融合タンパク Dr-5HTR1 が D-Trp だけでなくナイアシンやセロトニンの受容体として機能しているのかを証明する。

(3) D-Trp 以外の有性化因子の単離・同定量的供給が *Bd. brunnea* に比べて約 20 倍である有性種 *Bipalium nobile* を材料にして (Nakagawa et al. in preparation) D-Trp 以外の有性化因子の単離・同定を目指した。強い有性化活性が有性種 *Bi. nobile* のエタノール抽出物をさらに水/酢酸エチルで分配した水層に認められる。湿重量 4g の *Bi. nobile* を出発材料にした分画物を 30 匹の検定個体に給餌する条件で、酢酸エチル層にも有性化活性が認められたので、さらにメタノール/ヘキサンで分配したところ、メタノール層にのみ有性化活性が認められた。メタノール層をさらにシリカゲルで 5 つの画分にわけたところ、Fr. 3 と Fr. 5 にステージ 5 までの有性化活性が認められた (他の画分はステージ 2 までの誘導活性があった)。ステージ 5 までの有性化活性を示す画分は、Fr. 3 と Fr. 5 をさらに HPLC (ODS c. c.) で分画を進めるたびに少なくなり、ほとんどがステージ 2 までの誘導活性しか示さぬようになった。そこで、湿重量 40g の *Bi. nobile* を出発材料にした分画物を 30 匹の検定個体に給餌する条件で生物検定を行なったところ、Fr. 5-1-3 にステージ 5 までの有性化活性が認められた。Fr. 5-1-3 を HPLC (ODS c. c.) で 5 つの画分に分けたところ、Fr. 5-1-3-2 ~4 の 3 画分にステージ 2 までの有性化活性が認められた。材料の供給問題で、各分画当たりの出発材料を湿重量 40g 以上に設定することは困難であったことと、これらの分画物のいくつかは単一物質になるまで精製が進んでいることが TLC 解析で示されたので、この画分に含まれている化合物が完全有性化活性を有しているかは未検証のまま質量分析を行なった (残念ながら、NMR 解析を行なうほどの量は得られなかった)。現在、Fr. 5-1-3-2 が Trp であることがわかっている (図 3)。

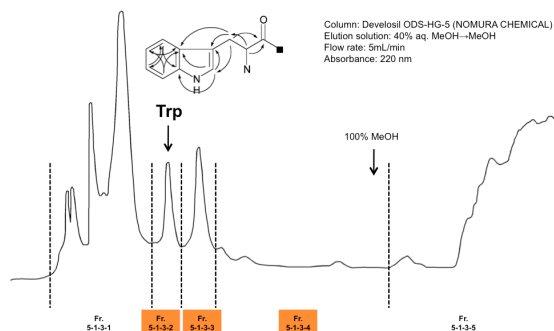


図3 Fr. 5-1-3 の HPLC (ODS c. c.) のクロマトグラム (吸収波長は 220nm。橙色の画分にステージ 2 まで、つまり卵巢誘導活性がある。Fr. 5-1-3-2 は Trp であった)

そして、Fr. 5-1-3-2 には D/L 比が約 2% で D-Trp が含まれていることがわかった (図 4)。

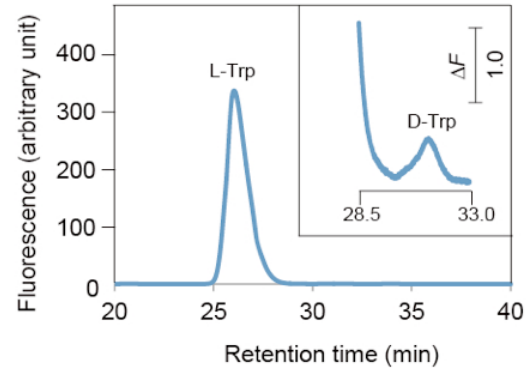


図4 Fr. 5-1-3-2 のキラル解析

Fr. 5-1-3-2 に含まれている D-Trp の量は無性個体に卵巢を誘導するために十分な量であった。以前、*Bd. brunnea* の PBS 抽出物からステージ 5 まで、すなわち完全有性化を引き起こすことのできる画分から Trp を同定したが、今回、材料や方法が異なるにもかかわらず、有性化活性の強い画分から Trp、しかも D-Trp が同定されたことには重大な意味があると思われる。現在、D-Trp とともに完全有性化を引き起こしていると考えられる Fr. 5-1-3-3 や Fr. 5-1-3-4 に含まれている化合物の同定を目指している。

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 5 件)

- ① Kobayashi, K., Nakagawa, H., Maezawa, T., Hoshi, M., Existence of two sexual races in the planarian species switching between asexual and sexual reproduction, *Zool. Sci.*, 査読有, Vol. 29, 2012, 265-272
- ② Nakagawa, H., Ishizu, H., Chinone, A., Kobayashi, K., Matsumoto, M., The *Dr-nanos* gene is essential for germ cell specification in the planarian *Dugesia ryukyuensis*, *Int. J. Dev. Biol.*, 査読有, Vol. 56, 2012, 165-171
- ③ Nakagawa, H., Ishizu, H., Hasegawa, R., Kobayashi, K., Matsumoto, M., Drpiwi-1 is essential for germline cell formation during sexualization of the planarian *Dugesia ryukyuensis*, *Dev. Biol.*, 査読有, Vol. 361, 2012, 167-176
- ④ Kobayashi, K., Hoshi, M., Sex-inducing

effect of a hydrophilic fraction on reproductive switching in the planarian *Dugesia ryukyuensis* (Seriata, Tricladida), Front. Zool., 査読有, Vol.8, 2011, 23

⑤ 小林一也、松本 緑、プラナリアの生殖様式転換機構と配偶子幹細胞、細胞工学、査読無、29巻、2010、670-673

〔学会発表〕(計26件うち招待講演12件) 招待講演のみ記載する。

① 小林一也、プラナリア無性個体を有性化する化学物質について、動植物アロ認証 第7回領域会議、2013年6月1日、松江

② Maezawa, T., Tanaka, H., Kobayashi, K., Switching from asexual to sexual reproduction in the planarian *Dugesia ryukyuensis*: The role of D-amino acid oxidase, 46th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists, 31st May, 2013, Matsue, Japan

③ 小林一也、接木実験から出発したプラナリアの実験的有性化、東北植物学会 第2回大会、2012年12月15日、弘前

④ 小林一也、プラナリアの生殖戦略転換機構：D-アミノ酸研究から見えてきたこと、第8回Dアミノ酸研究会学術講演会、2012年9月7日、大津

⑤ Kobayashi, K., Sex-inducing effects by 'Feeding': Switching from asexual to sexual reproduction in the planarian *Dugesia ryukyuensis*, The 58th/60th NIBB Conference, 19th July, 2012, Okazaki, Japan

⑥ Kobayashi, K., "Tryptophan, one of sex-inducing substances in the planarian *Dugesia ryukyuensis*, Planarian Regeneration Research Meeting in Kyoto, 21st Nov, 2011, Kyoto, Japan

⑦ Maezawa, T., Tanaka, H., Nakagawa, H., Horiike, K., Kobayashi, K., D-amino acid oxidase represses the sexual induction in the planarian *Dugesia ryukyuensis*, Planarian Regeneration Research Meeting in Kyoto, 22nd Nov, 2011, Kyoto, Japan

⑧ 小林一也、プラナリアにおける無性生殖から有性生殖への転換現象-有性化因子を求めて、日本動物学会第82回大会、2011年9月23日、旭川

⑨ Kobayashi, K., Sexual induction in the asexual form of the planarian, Joint Meeting of the German and Japanese Societies of Developmental Biologists, 24th Mar, 2011, Dresden, Germany

⑩ 松本 緑、小林一也、プラナリアの生殖幹細胞増殖因子としてのD-トリプトファン、

第33回日本分子生物学会、2010年12月7日、神戸

⑪ Kobayashi, K., Sexual induction in the asexual form of the planarian, Satellite Symposium to SDB and Japanese SDB Joint Meeting, 5th Aug, 2010, Albuquerque, USA

⑫ Kobayashi, K., Aoki, M., Hoshi, M., Matsumoto, M., Sexual induction by feeding in an asexual strain of the planarian, *Dugesia ryukyuensis*, The 1st International Meeting on Planarian Biology, 27th May, 2011, Münster, Germany

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0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0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

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 一也 (KOBAYASHI KAZUYA)

弘前大学・農学生命科学部・准教授

研究者番号: 50360110

(2) 研究分担者

松本 緑 (MATSUMOTO MIDORI)

慶應義塾大学・理工学部・准教授

研究者番号: 00211574

田中 裕之 (TANAKA HIROYUKI)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号: 10293820

(3) 連携研究者

なし