

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 13 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580182

研究課題名(和文)筋形成におけるエストロゲンの役割と植物エストロゲンの効果

研究課題名(英文)Effects of estrogen and phytoestrogen on myogenesis

研究代表者

山地 亮一(Yamaji, Ryoichi)

大阪府立大学・生命環境科学研究科(系)・教授

研究者番号：00244666

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋組織は、運動器としての役割以外に、糖質あるいは脂質の代謝も担うが、男女間で量的に異なる。女性ホルモン(エストロゲン)がその要因としてあげられるが、詳細は不明である。本研究では、女性ホルモン(エストロゲン)が転写因子であるエストロゲン受容体(ER)を介して脱ユビキチン化酵素19(USP19)の発現を亢進し、筋分化を抑制することを明らかにした。さらにERとそのアイソフォームであるERによるUSP19の発現調節機構を明らかにし、ERアゴニスト活性を持つ食品成分によるUSP19の発現制御についても評価した。またUSP19による筋分化抑制の作用機構についても検討した。

研究成果の概要(英文)：Skeletal muscle is the most abundant tissue in the body. Body composition and body size are different between males and females. Sex hormones are thought to be responsible for gender-specific differences in skeletal muscle mass, but their specific effects remain poorly characterized. Estrogen receptor (ER) alpha and ERbeta have been identified in skeletal muscle. Although estrogens seem to act on skeletal muscle through ER isoforms, the roles of E2 and the two ER isoforms in skeletal muscle remain unclear. In this study, I demonstrate that E2 inhibits myogenic differentiation of mouse C2C12 myoblasts and mouse satellite cells and increases the expression of USP19 in skeletal muscle in vitro and in vivo. Furthermore, I demonstrate that USP19 is induced by the nuclear ERalpha and inhibits myogenesis by acting as a deubiquitinating enzyme. I also analyzed the roles of the two ERs and ERbeta agonist in USP19 expression.

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：骨格筋 エストロゲン エストロゲン受容体 ユビキチン化 脱ユビキチン化 植物エストロゲン ダイゼイン

1. 研究開始当初の背景

体重の約 40%を占める骨格筋組織は、骨格筋は姿勢の保持や運動器としての機能以外に、糖の取り込みやエネルギー代謝の役割も担っているため、骨格筋量の維持・増加は運動機能を改善するだけでなく、肥満や糖尿病などの生活習慣病の予防・治療につながると考えられている。女性は男性よりも骨格筋量が少なく、この男女間の性差を誘発する要因として性ホルモンが挙げられる。男性ホルモン(アンドロゲン)は詳細な機構は不明であるが骨格筋の増強に關与することが知られている。一方で女性ホルモン(エストロゲン)に關しては骨格筋量におよぼす効果は不明である。

エストロゲンと結合した転写因子のエストロゲン受容体(ER)は、標的遺伝子に存在するエストロゲン応答配列(ERE)に結合し、標的遺伝子の発現を亢進する。ERには2つのアイソフォーム ER α と ER β が存在する。これまでに ER α は乳がん細胞の増殖促進に作用し、ER β は逆に増殖抑制に作用することから、これらの受容体は互いに拮抗的に働くと考えられている。エストロゲンは ER α と ER β の両方に作用するが、植物エストロゲンと呼ばれるエストロゲン様生理活性を持つ大豆イソフラボン(ゲニステイン、ダイゼイン)は、ER α よりも ER β に高い親和性を持つ。しかしこれらのリガンドが ER α と ER β のどちらをより活性化するのかについては組織または細胞に依存しており、これらのリガンドの作用機構は複雑である。近年、骨格筋で ERの2つのアイソフォームが発現していることが報告されたが、その役割は不明である。これまでに国内外の研究者が骨格筋形成における性ホルモンの作用を研究しているが詳細な分子機構は不明であり、また食品機能性成分と筋形成の關係についての情報はほとんどない状況である。

2. 研究の目的

骨格筋組織が形成される時は、サテライト細胞(筋衛星細胞)が増殖する、サテライト細胞が筋芽細胞へ分化する、筋芽細胞が融合し多核化した筋管細胞を形成する、筋管細胞が集合して骨格筋組織を構成する筋繊維となる、という特徴的な過程を経る。通常骨格筋ではミオシン重鎖(MHC)やトロポミオシンのような筋を構成するタンパク質の合成と分解のバランスが保たれており、骨格筋は一定の重量を維持している。しかしタンパク質の合成速度が低下あるいは分解速度が亢進してこのバランスが破綻すると、筋構成タンパク質の量が低下し、骨格筋の萎縮が誘発される。骨格筋量の分解を担う主要な経路としてユビキチン-プロテアソーム系がある。

ユビキチン-プロテアソーム系とは、ユビキチン活性化酵素、ユビキチン結合酵素、そしてユビキチンリガーゼの3つの酵素が連携

して標的タンパク質にユビキチンと呼ばれるペプチドを結合し(この過程をユビキチン化と呼ぶ)、さらにユビキチン化された標的タンパク質を 26S プロテアソームが認識して分解するシステムのことである。骨格筋量が減少するときは骨格筋特異的ユビキチンリガーゼの発現が上昇し、骨格筋構成タンパク質や筋分化に關わる因子へのユビキチン化が亢進し、それらのユビキチン化されたタンパク質がプロテアソームによって分解される。その結果、骨格筋の細胞内のタンパク質の分解が亢進する。一方、ユビキチン-プロテアソーム系は、ユビキチン化反応の逆反応を触媒する酵素、つまりユビキチン化タンパク質からユビキチンを解離する反応を触媒する酵素である脱ユビキチン化酵素(USP)によっても制御されている。USPは、ユビキチン分子を再利用するためにユビキチンを回収する役割以外にユビキチンリガーゼと拮抗的に作用してユビキチン化タンパク質をプロテアソームによる分解から保護する役割も担う。よってユビキチン付加反応だけでなく、脱ユビキチン化反応もユビキチン-プロテアソーム系の維持に重要である。しかしながら、脱ユビキチン化酵素の骨格筋における役割やその発現機構は不明な点が多い。

これまでに、エストロゲンの 17 β -エストラジオール(E2)が、マウス筋芽細胞株(C2C12細胞)が筋管細胞へと分化することを抑制すること、さらに E2によって筋分化が抑制される時に USP19 の発現が亢進することを見いだしたので、本研究ではエストロゲンと USP19 との關係に注目して、エストロゲンの筋形成における役割と食品成分である植物エストロゲンの筋形成における機能性を明らかにするために、以下の3つの課題に取り組んだ：

- (1) E2による USP19 の発現調節機構の解明
- (2) USP19による筋分化抑制機構の解明
- (3) E2様作用を持つ食品成分(植物エストロゲン)の USP19 発現調節機構の解明

3. 研究の方法

実験方法を以下に記載する。

- (1) 細胞培養法：マウス筋芽細胞株C2C12細胞を、37℃、5% CO₂/95% air、100%湿度の条件下で10%牛胎児血清を含む DMEM(増殖培地)で培養した。筋芽細胞を筋管細胞に分化させるときは、90%コンフルエントにまで筋芽細胞を増殖培地で培養後、2%馬血清を含む DMEM(分化培地)で培養した。分化培地は1日おきに培地交換した。一方、エストロゲンの効果を評価する時は、デキストランコートした活性炭で処理した馬血清を含む DMEM(DC-分化培地)で培養した。
- (2) 動物：ddYメスマウスを室温(23±2℃)、湿度(60±10%)、明暗周期(12時間周期)

- で飼育した。水と餌には自由に摂取できる環境とした。全ての動物実験は、公立大学法人大阪府立大学動物実験規定を遵守して実施した。
- (3) サテライト細胞の単離：サテライト細胞は新生仔と若齢のマウスの後肢筋肉から単離した。
 - (4) E2補充療法：ddYメスマウス（7週齢）を3群に分け、そのうち2群を卵巣摘出（OVX）し、OVX+Veh群とOVX+E2群と呼び、もう1つは疑似手術したsham群とした。OVX+Veh群とSham群にはvehicleを投与し、OVX+E2群にはE2を筋肉注射した。
 - (5) タンパク質同定：C2C12細胞をE2存在下または非存在下でDC-分化培地で培養し、細胞破碎液を調製した。蛍光2次元電気泳動により、E2存在下で発現の亢進したスポットからタンパク質を抽出し、ハイブリッド型リニアイオントラップ/TOF-MSで分析し、得られてデータはMascot MS/MSイオンサーチアルゴリズムで解析した。
 - (6) 免疫蛍光解析：C2C12細胞を培養後、4%パラフォルムアルデヒドで固定した。筋構成タンパク質であるMHCに対する抗体と反応させ、その後、蛍光標識した2次抗体と反応させ、蛍光顕微鏡で観察した。
 - (7) ウェスタンブロット解析：C2C12細胞を破碎後、タンパク質をSDS-PAGEで分離し、ウェスタンブロットに供した。ER α 、ER β 、MHC、トロポミオシン、USP19抗体と反応させた。
 - (8) 細胞分画：C2C12細胞をE2存在下または非存在下でDC-分化培地で培養し、細胞を破碎した。破碎液を遠心分離して、細胞質ゾル画分、核画分、顆粒画分に分画した。
 - (9) 定量的リアルタイムPCR（qRT-PCR）：総RNAを抽出し、逆転写反応に供した。得られたDNAを使ってqRT-PCRによりmRNAレベルを定量した。
 - (10) プラスミド：野生型ER α の発現ベクター、核内だけで発現する変異型ER α 発現ベクター（ER α -NLS）、野生型ER β 発現ベクター、野生型USP19発現ベクター、脱ユビキチン化酵素活性を欠失した変異型USP19発現ベクター（USP19(C548A)とUSP19(C548S)）、USP19の欠損変異型USP19発現ベクター、USP19のプロモーター領域を含むレポーターベクター（pUSP19-wERE）とその変異型レポーターベクター（pUSP19-mERE）、を作製した。
 - (11) *in vitro*トランスフェクション：C2C12細胞を70%コンフルエントまで増殖培地で培養後、siRNAまたは前述のプラスミドをトランスフェクションした。

- (12) *in vivo*トランスフェクション：アテロコラーゲンと複合体を形成させたコントロールsiRNAを左後肢に、USP19 siRNAを右後肢にトランスフェクションした。
- (13) 筋萎縮の誘発：USP19は筋萎縮時に発現が亢進するので、このようなときのUSP19の発現調節機構を検討するため、坐骨神経を切除して、筋萎縮を誘発させた。
- (14) ダイゼイン投与：ddYメスマウス（7週齢）を4群に分け、そのうち3群を卵巣摘出（OVX）し、OVX+Veh群、OVX+E2群、OVX+E2+Daid群と呼び、もう1つは疑似手術したsham群とした。OVX+Veh群とSham群にはvehicleを投与し、OVX+E2群とOVX+E2+Daid群にはE2を筋肉注射した。OVX+E2+Daid群はダイゼインを混餌として与えた。

4. 研究成果

前述した3つの課題を検討して、得られた成果を以下に記載する。

- (1) E2によるUSP19の発現調節機構の解明
E2によってC2C12細胞の筋分化が抑制されたので、ER α アゴニスト（PPT）またはER β アゴニスト（DPN）の筋分化に及ぼす影響を検討するため、PPTまたはDPNを含むDC-分化培地で培養したところ、ER α アゴニストがE2と同様に形態的に筋分化を抑制した。このとき、ER α アゴニストは筋分化マーカーである筋構成タンパク質（MHCとトロポミオシン）の発現も抑制した。E2による筋分化抑制効果は形態的にも筋分化マーカー的にもサテライト細胞でも同様の結果が観察された。E2による筋分化抑制効果は、ERアンタゴニスト（ICI 182,780）によって阻害されたことから、E2による筋分化抑制にERが関与することが示唆された。E2による筋分化抑制が誘発されているときにUSP19の発現が亢進したので、USP19の発現に及ぼすE2の効果を検討したところ、C2C12細胞でもサテライト細胞でもUSP19の発現はE2に依存して増加することが判明した。E2による発現亢進が*in vivo*でも起こるかを検討するため、マウスをOVX処理したところ、OVXにより腓腹筋とヒラメ筋においてUSP19の発現がshamマウスに比べて低下し、OVXマウスにE2を投与したところ、USP19の発現レベルはshamマウスレベルにまで回復した。Sham群に比較してOVX+Veh群の骨格筋量に有意な差は認められなかったが、OVX+E2はOVX+Veh群よりも腓腹筋とヒラメ筋の量が低下した。

C2C12細胞で USP19 を siRNA でノックダウンすると形態的にも、筋分化マーカー的にも、筋形成が促進した。

E2 による USP19 の発現亢進は、ICI 182,780 によって阻害された。

E2 と同様に PPT が USP19 の発現を亢進した。しかし DPN は USP19 の発現に影響しなかった。

E2 による USP19 の発現亢進における ER α の関与を検討するため、C2C12 細胞で ER α を高発現させたところ、USP19 の発現が亢進し、筋分化が抑制された。

ER α をノックダウンした C2C12 細胞では E2 による USP19 の発現亢進効果と筋分化抑制効果が観察されなかった。

C2C12 細胞で、ER α は E2 によって核内に移行したので、核内でだけ発現する ER α □□□□ を C2C12 細胞では発現させたところ、USP19 の発現が亢進し、筋分化が抑制されたことから、ER α の作用箇所は核内であることが判明した。

メスマウスの後肢筋肉で USP19 をノックダウンすると、ヒラメ筋と腓腹筋の量が増加したことから、USP19 による筋量の調節は *in vivo* でも起こっていることが判明した。

以上の結果をまとめると、USP19 は E2 が ER α に結合し、その結果として発現を亢進することが判明した。また USP19 の発現はメスマウスの筋量を E2 に依存して低下させることも明らかとなった。

- (2) USP19 による筋分化抑制機構の解明
USP19 を C2C12 細胞で高発現させると、形態的にも、筋分化マーカー的にも、筋分化が抑制された。

USP19 の脱ユビキチン化酵素活性を欠失した変異型 USP19 (USP19(C548A) または USP19(C548S)) を高発現させると筋分化マーカーの発現が増加した。E2 存在下では細胞内全体でのユビキチン化タンパク質のレベルが低下した。

ユビキチン化タンパク質のレベルを野生型 USP19 は低下させたが、USP19(C548A) または USP19(C548S) は逆に増加させた。

E2 によって低下したユビキチン化タンパク質レベルは、USP19 をノックダウンすると増加した。

USP19 の欠損変異体を用いて、USP19 のアミノ酸配列 494-1342 番目の領域に筋分化抑制活性があることを明らかにした。

USP19 のプロモーター領域を持つレポーターベクター pUSP19-wERE を C2C12 細胞に形質転換したところ、E2 によってレポーター活性が上昇した。

プロモーター領域を解析し、ER α が結合すると推測される塩基配列に変異を

導入したレポーターベクター pUSP19-mERE を作製したところ、この pUSP19-mERE は E2 に応答しなかった。

坐骨神経切除によって後肢筋肉を萎縮させると USP19 の発現が亢進した。この萎縮は抗酸化剤によって抑制されることから、USP19 の発現亢進に活性酸素が関与することが示唆された。

以上の結果から、USP19 は脱ユビキチン化活性を利用して、筋分化を抑制していることが判明した。また筋分化を抑制するために USP19 はその構造上、N 末端側に位置する CS ドメインを必要とせず、C 末端側に位置する USP ドメイン (脱ユビキチン化活性部位と MYND Zn フィンガードメインを含む) を必要とすることが判明した。さらに ER α は USP19 のプロモーター領域の ERE に結合して、USP19 の発現を亢進しており、今回その ERE を同定した。

- (3) E2 様作用を持つ食品成分 (植物エストロゲン) の USP19 発現調節機構の解明
ER β を C2C12 細胞で高発現させると、E2 による USP19 の発現亢進が抑制され、筋分化抑制も解除された。

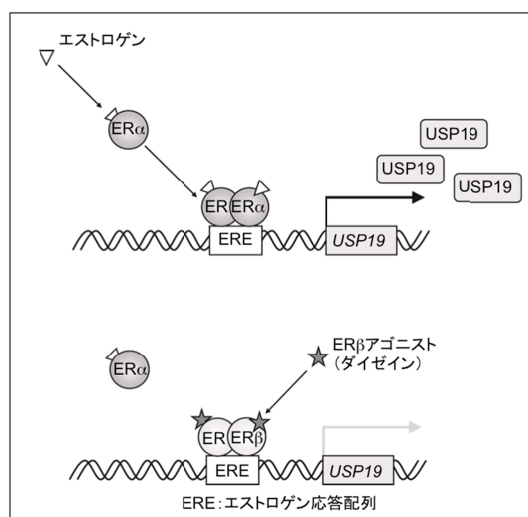
ER β をノックダウンする USP19 の発現が亢進し、筋分化が抑制された。これらの効果は、E2 存在下でさらに亢進した。C2C12 細胞とサテライト細胞において E2 による USP19 の発現亢進は DPN が共存すると抑制された。

ER α と ER β は C2C12 細胞とサテライト細胞 (新生子と若齢マウス由来のどちらとも) で同じレベルで発現していた。植物エストロゲン活性を持つ大豆イソフラボンのゲニステインとダイゼインの C2C12 細胞における ER α 活性と ER β 活性を測定した。E2 では ER α 活性 > ER β 活性、ゲニステインでは ER α 活性 = ER β 活性であったが、ダイゼインでは ER α 活性 < ER β 活性であり、筋細胞ではダイゼインが ER β アゴニスト活性を持つことが判明した。

E2 による USP19 の発現亢進と筋分化抑制はダイゼインによって抑制された。OVX マウスへの E2 投与による筋量低下と USP19 発現亢進は、ダイゼインを摂取させることによって抑制されたが、ゲニステインにはそのような効果はなかった。

以上の結果をまとめると、これまでに USP19 の発現を亢進するのは主に骨格筋が萎縮するときであり、実際に坐骨神経切除による筋萎縮を誘発させると後肢筋肉において USP19 の発現が亢進した。このとき抗酸化剤により USP19 の発現が抑制されたので、USP19 の主要な誘発因子は活性酸素であると推測された。しかしながら E2 による筋形成阻

害は活性酸素によるものというよりも、ER α を介したゲノミック作用によることが、1つ目の課題から明らかになり、さらに本課題から ER β が ER β アゴニストに依存して E2 による ER α の機能を阻害し、USP19 の発現を抑制することも判明した。これらの現象は ER β アゴニスト活性を持つダイゼインを摂取したマウスの骨格筋においても観察された。したがって筋萎縮の起こっていない状況下では、下図のように、ER α の USP19 の ERE への結合を ER β が競合的に阻害することによって ER α と ER β が USP19 の発現を調節していると推測される。



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 8件)

Mitani T, Ito Y, Harada N, Nakano Y, Inui H, Yamaji R. Resveratrol reduces the hypoxia-induced resistance to doxorubicin in breast cancer cells. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* In press.

<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/jnsv> (査読有り)

Ito Y, Mitani T, Harada N, Isayama A, Tanimori S, Takenaka S, Nakano Y, Inui H, Yamaji R. Identification of carbonyl reductase 1 as a resveratrol-binding protein by affinity chromatography using 4'-amino-3,5-dihydroxy-*trans*-stilbene. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* (2013) 59, 358-364.

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnsv/59/4/59_358/_article (査読有り)

Ogawa M, Kariya Y, Kitakaze T, Yamaji R, Harada N, Sakamoto T, Hosotani K, Nakano Y, Inui H. The preventive effect of β -carotene on denervation-induced soleus muscle

atrophy in mice. *Br. J. Nutr.* (2013) 109, 1349-1358.

DOI: 10.1017/S0007114512003297

(査読有り)

山地亮二、カロテノイドによる筋萎縮抑制、バイオインダストリー (2013) 10, 36-43.

<http://ci.nii.ac.jp/naid/40019834977>

(査読無し)

北風智也、原田直樹、山地亮一、 β -Carotene 15,15'-monooxygenase 1 (BCMO1) の新しい機能、ビタミン (2013) 87, 696-699.

<http://web.kyoto-inet.or.jp/people/vsojkn/journal/topics-87.html> (査読有り)

小川真弘、原田直樹、山地亮二、エストロゲン受容体 β アゴニストとしての S-エクオール的女性疾患に対する有効性に関する最近の知見、ビタミン (2013) 87, 450-453.

<http://web.kyoto-inet.or.jp/people/vsojkn/journal/topics-87.html> (査読有り)

三谷壘一、原田直樹、山地亮二、抗酸化物質としてのレスベラトロールの多機能性、ビタミン (2012) 86, 687-689.

<http://web.kyoto-inet.or.jp/people/vsojkn/journal/topics-86.html> (査読有り)

Ogawa M, Yamaji R, Higashimura Y, Harada N, Ashida H, Nakano Y, Inui H. 17 β -Estradiol represses myogenic differentiation by increasing ubiquitin-specific peptidase 19 through estrogen receptor α . *J. Biol. Chem.* (2011) 286, 41455-41465.

DOI: 10.1074/jbc.M111.276824.

(査読有り)

[学会発表](計16件)

小川真弘、原田直樹、中野長久、乾博、山地亮二、脱ユビキチン化酵素 USP19 の骨格筋量における性差への関与、日本農芸化学会大会、2014年3月29日、神奈川(明治大学)

Ogawa M, Harada N, Nakano Y, Inui H, Yamaji R, Daidzein attenuates 17 β -estradiol-repressed myogenic differentiation. 20th international congress of nutrition (ICN2013), 2013年9月19日、スペイン(グラナダ)(Granada Exhibition and Conference Centre)

小川真弘、北風智也、原田直樹、中野長久、乾博、山地亮二、ゲニステインにはないダイゼインの機能:女性ホルモンによる筋分化抑制の解除、日本栄養・食糧学会、2013年5月26日、愛知(名古屋大学)

北風智也、小川真弘、原田直樹、中野長久、乾博、山地亮二、 β -カロテンは骨格筋形成を促進する、日本ビタミン学会、

2013年5月18日、東京（一橋大学）
石川真菜、小川真弘、北風智也、原田直樹、中野長久、乾博、山地亮二、卵巣摘出マウスにおいてダイゼイン摂取は長趾伸筋重量を増加させる、日本農芸化学会大会、2013年3月26日、宮城（東北大学）

伊藤雄太、原田直樹、諫山篤、谷森伸治、中野長久、乾博、山地亮二、レスベラトロールによるカルボニルレダクターゼ1の阻害は低酸素誘導性の薬剤耐性を改善する、日本農芸化学会大会、2013年3月26日、宮城（東北大学）

山地亮二、女性ホルモンとダイゼインによる骨格筋量の調節機構、第431回ビタミンB研究協議会、2013年2月2日、大阪（大阪大学中之島センター）

小川真弘、原田直樹、中野長久、乾博、山地亮二、グルココルチコイド誘発性筋萎縮に関連する脱ユビキチン化酵素USP19の男性ホルモンによる発現調節機構、日本生化学会大会、2012年12月15日、福岡（福岡国際会議場）

北風智也、小川真弘、假家義弘、原田直樹、中野長久、乾博、山地亮二、骨格筋形成に及ぼすβ-カロテンの影響、日本栄養・食糧学会近畿支部大会、2012年10月20日、兵庫（神戸学院大学）

小川真弘、假家義裕、山地亮二、原田直樹、細谷圭助、中野長久、乾博、β-カロテンは坐骨神経切除による廃用性筋萎縮を抑制する、日本ビタミン学会大会、2012年6月23日、岐阜（長良川国際会議場）

小川真弘、山地亮二、原田直樹、中野長久、乾博、エストロゲンによる筋分化抑制作用に及ぼすダイゼインの影響、日本栄養・食糧学会、2012年5月19日、宮城（東北大学）

Ogawa M, Kariya Y, Yamaji R, Hosotani K, Harada N, Nakano Y, Inui H, β-Carotene inhibits increases of atrogene expressions in denervated skeletal muscle of mouse. International Conference on Food Factors (ICoFF), 2012年11月2日、Taiwan (Taipei), International Convention Center

小川真弘、山地亮二、原田直樹、中野長久、乾博、筋分化抑制因子USP19遺伝子のエストロゲンによる転写調節機構の解析、日本農芸化学会大会、2012年3月25日、京都（京都女子大学）

假家義裕、小川真弘、原田直樹、山地亮二、細谷圭助、中野長久、乾博、β-カロテンは廃用性筋萎縮モデルマウスの筋萎縮関連遺伝子発現を抑制する、日本農芸化学会大会、2012年3月25日、京都（京都女子大学）

小川真弘、山地亮二、原田直樹、中野長

久、乾博、エストロゲンによる筋形成抑制作用における脱ユビキチン化酵素USP19の関与、日本生化学会、2011年9月24日、京都（国際会議場）

小川真宏、山地亮二、原田直樹、中野長久、乾博、大豆イソフラボンは女性ホルモンによる筋分化抑制を解除する、日本ビタミン学会大会、2011年6月5日、広島（安田女子大学）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.biochem.osakafu-u.ac.jp/NC/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山地 亮一 (YAMAJI RYOICHI)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授
研究者番号：00244666