

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592173

研究課題名(和文) 脊髄損傷後の難治性疼痛における ROS の関与について

研究課題名(英文) A role of ROS in chronic intractable pain after spinal cord injury

研究代表者

吉田 宗人 (YOSHIDA, MUNEHITO)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：60201018

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000 円、(間接経費) 1,230,000 円

研究成果の概要(和文)：活性酸素種(ROS)は、脊髄損傷後疼痛など脊髄中枢性神経障害性疼痛において重要な役割を担っている。ROSが興奮性シナプス伝達にどのように作用するのか、ラット脊髄膠様質ニューロンにホールセルパッチクランプ法を用いて解析を行った。ROSドナーであるt-BOOHを脊髄に灌流投与すると興奮性シナプス後電流(EPSC)の頻度・振幅の著しい増強を認めた。さらにこの増強効果はTRPA1あるいはTRPV1受容体拮抗薬の存在下では有意に抑制された。以上のことから、ROSによるTRPA1やTRPV1の過剰な活性化が脊髄膠様質細胞の中枢性感作を生じ、脊髄損傷後疼痛などの神経障害性疼痛を発症させる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Reactive oxygen species (ROS) have been recognized to play an important role in central neuropathic pain (CNP) in the spinal cord, such as chronic pain after spinal cord injury (SCI). To clarify how ROS impact on excitatory synaptic transmission, we investigated the effects of ROS on synaptic transmission in rat spinal cord substantia gelatinosa (SG) neurons using whole-cell patch-clamp recordings. Administration of t-BOOH, an ROS donor, into the spinal cord markedly increased the frequency and amplitude of spontaneous excitatory postsynaptic currents (sEPSCs) in SG neurons. Moreover, in the presence of a TRPA1 or TRPV1 channel antagonist, the t-BOOH-induced increase in the frequency of sEPSCs was inhibited. These results indicate that the excessive activation of TRPA1 and TRPV1 channels by ROS may induce central sensitization in the spinal cord and result in chronic pain such as that following SCI.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：シグナル伝達 ROS パッチクランプ法 TRPA1 TRPV1 脊髄損傷後疼痛 活性酸素種 脊髄後角

1. 研究開始当初の背景

活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS)とは生体内のエネルギー代謝や感染防御過程において発生する酸素分子に由来し、反応性に富む一群の分子種を指し、その代表的なものとしてスーパーオキシド (O_2^-)、過酸化水素 (H_2O_2)などが挙げられる。正常では細胞内でその強力な酸化作用により生体防御に利用されている。一方、過剰な ROS は本来の生体防御から逸脱した作用を発現し、様々な病因になる。癌、動脈硬化、関節リウマチ、老化および神経疾患といったさまざまな疾病との関連が報告されている。また、神経障害性疼痛や炎症性疼痛を含む慢性疼痛においても脊髄レベルで ROS の関与が近年報告されている。例えば、神経障害性疼痛モデルにおいて ROS Scavenger (消去剤)の髄腔内投与、腹腔内投与、静注投与などの研究において動物行動学的に鎮痛作用があることや炎症モデルにおける二次性疼痛や長期増強 (Long Term Potentiation: LTP) に ROS が関与していると報告されており、ROS そのものが脊髄レベルでの疼痛情報伝達の修飾やシナプス伝達の可塑性に関与していることが示唆されている。

2. 研究の目的

脊髄損傷による後遺症の一つに脊髄損傷後疼痛が存在し、筋力低下や感覚障害以上に ADL 障害をもたらす原因となっている。脊髄損傷後難治性疼痛の原因はいまだ解明されておらず、その有効な治療法もない。近年、ROS が様々な慢性疼痛メカニズムに関与しているとの報告が散見される。ROS は脊髄損傷において、再灌流障害などにより細胞内から放出されることで二次損傷を引き起こす原因とされているが、脊髄損傷後疼痛の発現メカニズムにも関与している可能性が高い。我々は脊髄損傷後疼痛などの難治性神経障害性疼痛の発症には、ROS が脊髄後角レベルで中枢性痛覚過敏を引き起こしていると仮説を立てた。脊髄後角の膠様質は、皮膚末梢からの痛み情報が入力するところで、痛み情報の伝達や修飾が行われる重要な領域である。脊髄膠様質における単一細胞レベルでの ROS の作用の有無、ならびにその作用機序はいまだ不明である。そこで、我々は成熟ラットから作製した脊髄横断スライス標本の膠様質細胞にブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用し、ROS ドナーである tert-butylhydroperoxide (t-BOOH)が脊髄後角感覚細胞の興奮性シナプス伝達にどのような作用を及ぼすかを検討した。

3. 研究の方法

(1) 脊髄横断スライス標本の作製

5~6週齢の Sprague Dawley 系成熟雄性ラットにウレタン (腹腔内投与: 1.2~1.5 g/kg)で深麻酔後、背側の胸腰椎部に皮切を行った。エピネフリン添加 0.5%キシロカイン

液を棘突起の両側に局注後、傍脊柱筋群を切離し脊椎を露出した。中位胸椎から下位腰椎まで椎弓切除を行った。神経根を切離しながら脊髄を摘出し、酸素負荷した 2~4 の人工脳脊髄液に浸した。摘出した脊髄を実体顕微鏡下に硬膜、前根、後根、クモ膜及び軟膜を除去し、溝を設けた寒天ブロックに設置した。マイクロスライサーを用いて厚さ約 650 μ m の脊髄横断スライス標本を作製した。腰膨大部の脊髄スライスを記録用チャンバーに移し、グリッドにて上方から軽く固定した後、酸素負荷した人工脳脊髄液で 15~20 ml/分の速度で灌流した。人工脳脊髄液の組成は、NaCl 117 mM, KCl 3.6 mM, $CaCl_2$ 2.5 mM, $MgCl_2$ 1.2 mM, NaH_2PO_4 1.2 mM, glucose 11 mM, $NaHCO_3$ 25 mM であった。

(2) 脊髄膠様質細胞からのパッチクランプ記録

膠様質は、脊髄スライスに下方から透過光を当て、実体顕微鏡下 (20~40 倍)において観察すると後角の灰白質部表層に位置する半透明なバンド状として視認できる。膠様質細胞からブラインド・ホールセル・パッチクランプ法により膜電位固定下で膜電流記録を行った。ガラス電極は、入力抵抗が 8~15 M Ω のものを用い、その内液組成は potassium gluconate 135 mM, KCl 5 mM, $CaCl_2$ 0.5 mM, $MgCl_2$ 2 mM, EGTA 5 mM, ATP-Mg 5 mM, Hepes-KOH 5 mM であった。薬液の灌流は人工脳脊髄液と同ラインを用いて行った。興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic currents; EPSC)は、-70mV の保持膜電位で記録した。得られた応答はパッチクランプ用増幅器 (Axopatch 200B)により増幅され、A/D 変換後、データ記録及び解析用ソフトウェア (Molecular Devices 社 pClamp10, Synaptosoft 社 Mini Analysis 6.0)を用いて記録・解析した。実験結果は平均 \pm 標準誤差で表し、検定は paired t-test, unpaired t-test を用いた。また危険率 5% ($P < 0.05$)をもって有意と判定した。

4. 研究成果

膜電位固定下 (-70 mV)で記録した脊髄膠様質細胞に ROS ドナーである t-BOOH (10 mM)を 5 分間灌流投与すると、記録した全ての膠様質細胞で、自発性興奮性シナプス後電流 (spontaneous EPSC: sEPSC)の発生頻度ならびに振幅は増加した。t-BOOH による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の程度はそれぞれコントロールの $331.4 \pm 49.9 \%$ 、 $176.7 \pm 11.9 \%$ ($n = 13$, $p < 0.05$)であった。また、t-BOOH によって細胞膜の内向き電流も約 55% に発生し、その大きさの平均は 14.0 ± 2.0 pA であった ($n = 11$)。t-BOOH 存在下における sEPSC の inter-event interval と振幅の累積分布を調べたところ、コントロールに比べて inter-event interval は左方へ、振幅は右方へシフトした。また、t-BOOH によって sEPSC の発生頻度ならびに振幅が増加した細胞に、

t-B00H を 25 分後反復投与したところ、初回投与と同程度の増加が sEPSC の発生頻度と振幅において観察され(416.9 ± 142.1%、184.7 ± 26.0% (n = 4))、初回投与時の平均(374.7 ± 135.1%、181.2 ± 36.9%)と比較して、脱感作はみられなかった。電位依存性ナトリウムチャンネル阻害薬である tetrodotoxin (TTX) 存在下では微小興奮性シナプス後電流 (miniature EPSC: mEPSC) が観察できる。TTX (1 μM) 存在下において t-B00H を 5 分間灌流投与すると mEPSC の発生頻度ならびに振幅が増加した。その発生頻度ならびに振幅の程度は TTX 単独投与時と比較してそれぞれ 878.4 ± 333.8%、191.6 ± 39.1% (n = 7, p > 0.05) であった。t-B00H 存在下における mEPSC の inter-event interval と振幅の累積分布を調べたところ、コントロールに比べて inter-event interval は左方へ、振幅は右方へシフトした。次に TTX 存在下における t-B00H 投与前後での mEPSC の発生数及び振幅の分布を調べたところ、t-B00H 投与によって mEPSC の発生数が大きく増加し、全体のピークが低振幅から高振幅にシフトしたが、高振幅の mEPSC は t-B00H によって伝達物質を含んだシナプス小胞が同期的に大量放出された結果であることによるものかと考えた。次に 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) (20 μM) 存在下では sEPSC は完全に消失するが、t-B00H を 5 分間灌流投与しても sEPSC は観察されなかった。さらに Ca フリーの Krebs 液に t-B00H を投与したところ、sEPSC の頻度・振幅の変化率はそれぞれ 129.9 ± 9.8%、134.5 ± 11.9% (n = 10) であった。この変化率はコントロールと比べて有意に低かった。

次に t-B00H による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の増加が ROS scavenger である N-tert-Butyl-phenyl nitron (PBN), 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl (TEMPOL), N-acetyl cysteine (NAC) の 3 種をそれぞれ t-B00H と同時に灌流投与した場合に影響を受けるか検討した。PBN (10 mM) 存在下では、t-B00H 投与による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の程度は PBN 単独投与時と比較してそれぞれ 142.0 ± 12.3% and 132.5 ± 10.8% (n = 7) であった。同様に TEMPOL (10 mM) 存在下では 223.9 ± 38.3% and 189.9 ± 42.0% (n = 5)、NAC (10 mM) 存在下では 127.0 ± 10.0% and 158.6 ± 29.2% (n = 4) であった。これら sEPSC の発生頻度ならびに振幅の増加の程度は t-B00H 単独時の増加率と比較すると、PBN 存在下における sEPSC の頻度・振幅の増加率、NAC 存在下での sEPSC の頻度の増加率で有意差のある減少を認めた。

さらに TRP チャンネルの拮抗薬によって t-B00H による sEPSC の増強作用が影響を受けるか検討した。TRPA1 の選択的拮抗薬である HC-030031 (100 μM) の存在下では t-B00H による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の程度は

それぞれ 129.5 ± 9.5% と 137.9 ± 20.0% (n = 8) であった。また TRPV1 選択的拮抗薬である Capsazepine (100 μM) 存在下では 178.7 ± 26.7% と 223.2 ± 58.7% (n = 7) であった。さらに別の TRPV1 選択的拮抗薬である AMG9810 (100 μM) の存在下では 137.9 ± 18.0% 及び 175.2 ± 26.7% (n = 3) であった。t-B00H による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の増加の程度を HC-030031 存在下と非存在下において比較したところ、HC-030031 存在下では sEPSC の発生頻度は有意に減少した。t-B00H 投与による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の程度は Capsazepine 単独投与時と比較してそれぞれ 178 ± 27% (n = 7)、223 ± 59% (n = 7) であった。これら sEPSC の発生頻度ならびに振幅の増加の程度は t-B00H 単独時の増加率と比較すると全てのそれぞれの拮抗薬存在下において頻度において減少を認めたが振幅については有意差を認めなかった。また、HC-030031 と Capsazepine について濃度依存性を調べたところ、依存性を認めた。さらに内向き電流に関しては HC-030031 存在下では調べた 8 細胞中全てにおいて発生しなかったのに対して、Capsazepine では 7 細胞中 3 細胞で内向き電流の発生を認めた (42.8%)。

以上の結果から、ROS は一次求心性神経の中枢末端に存在する TRPA1 や TRPV1 を活性化させることで、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の放出を増強し、痛覚情報を増強させていることが判明した。このように ROS による脊髄後角細胞の過剰興奮が持続すると脊髄後角レベルでの中枢性痛覚過敏 (神経可塑的变化) が起こり、末梢神経損傷性疼痛や脊髄損傷後疼痛などに代表される難治性の神経障害性疼痛を発症させる可能性があると思われる。

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 11 件)

1. Nishio N, Taniguchi W, Sugimura YK, Takiguchi N, Yamanaka M, Kiyoyuki Y, Yamada H, Miyazaki N, Yoshida M, Nakatsuka T: Reactive oxygen species enhance excitatory synaptic transmission in rat spinal dorsal horn neurons by activating TRPA1 and TRPV1 channels. *Neuroscience* 247: 201-12 (2013). 査読有 doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.05.023.
2. 谷口 亘, 吉田宗人, 中塚映政: 慢性疼痛と原因療法 どこまで追究が可能か P2X 受容体を介した慢性疼痛メカニズムと鎮痛. *臨床整形外科* 48(12) 1169-1174 (2013) 査読無
3. Takiguchi N, Yoshida M, Taniguchi W, Hashizume H, Yamada H, Miyazaki N,

- Nishio N, Nakatsuka T: Distinct degree of radiculopathy at different levels of peripheral nerve injury. *Mol Pain* 8:31 (2012) 査読有 doi : 10.1186 / 1744-8069-8-31.
4. 谷口 亘, 吉田宗人, 中塚映政: 脊髄メカニズム. *Bone Joint Nerve* 5, 17-22 (2012) 査読無
 5. Nishio N, Taniguchi W, Sugimura Y, Takiguchi N, Kiyoyuki Y, Matsukawa S, Sakurai Y, Kawasaki Y, Nakatsuka T: Reactive oxygen species actions on excitatory synaptic transmission in spinal substantia gelatinosa neurons. *Pain Research* 27,143-152 (2012) 査読有
 6. Maenaka Y, Nishio N, Sugimura Y, Taniguchi W, Takiguchi N, Kiyoyuki Y, Matsukawa S, Miyazaki N, Nakatsuka T, Yoshida M: Patch-clamp analysis of reactive oxygen species actions on inhibitory synaptic transmission in spinal substantia gelatinosa neurons. *The Journal of Functional Diagnosis of the Spinal Cord*. (2012) 34, 52-57 査読有
 7. 中塚映政: 痛みの受容機構と鎮痛機構. *脊椎脊髄ジャーナル* 24, 333-339 (2011) 査読無
 8. 中塚映政: 脊髄内疼痛伝達機構の可塑的变化と神経障害性疼痛. *整形外科* 63, 344 (2011) 査読無
 9. Taniguchi W, Nakatsuka T, Miyazaki N, Yamada H, Takeda D, Fujita T, Kumamoto E, Yoshida M: In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive actions on substantia gelatinosa neurons in the spinal cord. *Pain* 152, 95-105 (2011) 査読有 doi : 10.1016 / j.pain.2010.09.034.
 10. 谷口 亘, 吉田宗人, 中塚映政: 【疼痛性疾患に対する薬物療法 - 最近の進歩】鎮痛薬の作用機序 - オピオイド -. *整形・災害外科* 54, 1477-1483 (2011) 査読無
 11. Kaito Y, Nishio N, Taniguchi W, Takiguchi N, Miyazaki N, Maenaka Y, Nakatsuka T, Yoshida M: In vivo patch-clamp analysis of reactive oxygen species actions on excitatory synaptic transmission in spinal substantia gelatinosa neurons. *The Journal of Functional Diagnosis of the Spinal Cord* 33, 18-23 (2011) 査読有
- [学会発表](計20件)
1. Yoshida M: Long-term clinical outcomes after microendoscopic decompression surgery for lumbar spinal stenosis. 6th ISMISS combined with 5th TURKMISS Congress in Turkey on Minimal Invasive Spine Surgery. 2013. 4. 11-14. Izmir, Turkey
 2. Yoshida M: Lumbar foraminal stenosis- the clinical features, diagnosis and microendoscopic treatment. 6th ISMISS combined with 5th TURKMISS Congress in Turkey on Minimal Invasive Spine Surgery. 2013. 4. 11-14. Izmir, Turkey
 3. Yoshida M: Minimal invasive decompression of lumbar spinal stenosis. Minimal Invasive Spinal Surgery Symposium. 2013. 1. 31-2. 1. HongKong
 4. Yoshida M: Clinical diagnosis and surgical strategy to prevent the failed back surgery syndrome. The 2nd ACMISST 2013 JAPAN. 2013. 3. 28-30. Inuyama
 5. Yoshida M: The double-crush syndrome of the 5th lumbar nerve as a cause of failed back surgery. International 30th Jubilee Course for Percutaneous Endoscopic Spinal Surgery And Complementary Minimal Invasive Techniques. 2012. 1. 26-27. Zurich, Switzerland
 6. Yoshida M: The double-crush syndrome of the 5th lumbar nerve as a cause of failed back surgery. The 10th Annual Meeting ISS & 3rd ISMISS. 2012. 7. 5-7. Bundong, Indonesia
 7. Taniguchi W, Nishio N, Takiguchi N, Yamanaka M, Kiyoyuki Y, Sakurai Y, Abe T, Mine N, Miyazaki N, Yoshida M, Nakatsuka T: Activation of TRPV1 channels is involved in knee osteoarthritis pain -in vivo patch-clamp analysis-. 43rd Annual Meeting of Society for Neuroscience. 2013.11.9-13. San Diego
 8. Abe T, Taniguchi W, Miyazaki N, Mine N, Takiguchi N, Yamanaka M, Yoshida M, Nakatsuka T: Patch-clamp analysis of anti-spasticity effect by baclofen in spinal ventral horn neurons. 43rd Annual Meeting of Society for Neuroscience. 2013.11.9-13. San Diego
 9. Takiguchi N, Yoshida M, Taniguchi W, Hashizume H, Miyazaki N, Nishio N, Nakatsuka T: Distinct degree of radiculopathy at different levels of peripheral nerve injury. 42th Annual Meeting of Society for Neuroscience. 2012. 10. 13-17. New Orleans
 10. Mine N, Miyazaki N, Abe T, Taniguchi W, Takiguchi N, Yoshida M, Nakatsuka T: Synaptic modulation in spinal motoneurons by activation of

- nicotinic acetylcholine receptors. 42th Annual Meeting of Society for Neuroscience. 2012. 10. 13-17. New Orleans
11. 谷口亘、吉田宗人、中塚映政 :痛み研究の最前線 慢性痛分子メカニズム 慢性疼痛における脊髄シナプス伝達の可塑性. 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2012. 10. 27. 名古屋
 12. 谷口亘、中塚映政 :脊髄由来の難治性疼痛病態解明と各種治療法 脊髄後角における慢性疼痛の発生機序について 第 47 回日本脊髄障害病医学会 2012. 10. 26. 静岡
 13. 谷口亘、西尾尚子、櫻井悠加、瀧口登、峰巨、阿部唯一、宮崎展行、吉田宗人、中塚映政: 活性酸素種(ROS)は TRPA1 チャンネルを介して脊髄後角ニューロンを興奮させる. 第 1 回和歌山ニューロカンファレンス. 2012.12. 1. 和歌山
 14. 瀧口登、谷口亘、山田宏、橋爪洋、宮崎展行、峰巨、中塚映政、吉田宗人: 腰神経の傷害部位の違いは神経障害性疼痛の発現にいかなる影響を与えるか. 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2012. 10. 26-27. 名古屋
 15. 前中悠加、谷口亘、瀧口登、杉村弥恵、宮崎展行、吉田宗人、西尾尚子、清行康邦、松川澄、中塚映政: 脊髄膠様質細胞における抑制性シナプス伝達に対する活性酸素の作用. 第 34 回脊髄機能診断研究会. 2012. 2. 4. 東京
 16. Taniguchi W, Takiguchi N, Kaito Y, Nishio N, Kawasaki Y, Miyazaki N, Yoshida M, Nakatsuka T: Dopaminergic inhibitory descending pathway is activated by electrical stimulation of A11 in the hypothalamus. -in vivo patch-clamp analysis-. 41th Annual Meeting of Society for Neuroscience. 2011. 11. 12-16. Washington D.C.
 17. Nishio N, Taniguchi W, Kiyoyuki Y, Kaito Y, Takiguchi N, Matsukawa S, Maenaka Y, Kawasaki Y, Takeda D, Nakatsuka T: Effects of reactive oxygen species on excitatory synaptic transmission in adult rat substantia gelatinosa neurons. 41th Annual Meeting of Society for Neuroscience. 2011. 11. 12-16. Washington D.C
 18. 西尾尚子、谷口亘、瀧口登、吉田宗人、中塚映政: 脊髄後角痛覚ニューロンの興奮性シナプス伝達に対する活性酸素の作用. 第 9 回整形外科痛みを語る会. 2011. 6. 25 松山
 19. 西尾尚子、谷口亘、海戸弥恵、瀧口登、川崎康彦、中塚映政: 脊髄膠様質ニューロンの興奮性シナプス伝達に対する活性酸素の作用. 第 33 回日本疼痛学会.

2011. 7. 22. 松山

20. 海戸弥恵、谷口亘、瀧口登、宮崎展行、吉田宗人、西尾尚子、松川澄、前中悠加、川崎康彦、中塚映政: 脊髄膠様質の興奮性シナプス伝達に対する活性酸素の作用 - インピボ・パッチクランプ法による解析 -. 第 33 回脊髄機能診断研究会. 2011. 2. 5. 東京

〔図書〕(計 6 件)

1. Wataru Taniguchi, Terumasa Nakatsuka. Chaptor31. Spinal synaptic plasticity in chronic pain. Neuroprotection and Regeneration of the Spinal Cord. 2014; 387-398, Springer Japan, Tokyo
2. 吉田宗人(編者、執筆): 脊椎内視鏡下手術(スキル関節鏡下手術アトラス), 文光堂, 東京, pp1-389, 2013
3. 谷口亘、中塚映政. 第 2 章 痛みのメカニズムと最新治療 1. 痛みのメカニズム 「先端医療シリーズ 44 臨床医のための最新整形外科」2013; 51-54, 先端医療技術研究所, 東京
4. 谷口亘、中塚映政. 1 章総論 5. 炎症痛のメカニズム 痛みの Science & Practice シリーズ 2 「痛みの薬物治療」2013; 58-66, 文光堂, 東京
5. 橋爪洋、吉田宗人: 「運動器診療 最新ガイドライン」腰部の疾患、腰痛、下肢のしびれ(痛み)の診療指針, 総合医学社, 東京, pp567-570, 2012
6. 吉田宗人(編者、執筆): イラスト図解 整形外科基本手技, 文光堂, 東京, pp1-304, 2011

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 宗人 (YOSHIDA MUNEHITO)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 60201018

(2) 研究分担者

中塚 映政 (NAKATSUKA TERUMASA)
関西医療大学・保健医療学部・客員教授
研究者番号: 30380752

谷口 亘 (TANIGUCHI WATARU)

関西医療大学・保健医療学部・准教授
研究者番号：20453194

(3)連携研究者
()

研究者番号：