

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24688033

研究課題名(和文)慢性腎臓病の次世代バイオマーカーの開発 伴侶動物の尿中microRNAを指標に

研究課題名(英文)Development of next-generation biomarkers for chronic kidney disease: MicroRNAs in the urine of companion animals

研究代表者

市居 修 (Ichii, Osamu)

北海道大学・(連合)獣医学研究科・准教授

研究者番号：60547769

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,800,000円

研究成果の概要(和文)：近年、慢性腎臓病の罹患者はヒトおよび伴侶動物で急増している。慢性腎臓病の対策では、早期に診断し、治療することが重要である。本研究では、“microRNA”と呼ばれる短鎖の核酸を慢性腎臓病の早期診断に応用することを目的とし、複数の動物種を用いて検証した。結果、慢性腎臓病モデルマウスの解析から、腎臓の病態進行を反映し、かつ尿中にも出現する特定のmicroRNAを同定した。このmicroRNAはマウスのみならず、イヌ、ネコおよびヒトの腎臓にも発現しており、慢性腎臓病の早期診断ツール(バイオマーカー)への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Recently, the numbers of human and animal patients with chronic kidney disease (CKD) have been increasing. It is crucial to diagnose and start treatment as an early therapeutic strategy for CKD. In this study, several animals were analyzed in order to use microRNAs as an early diagnostic tool for CKD. Specific microRNAs that indicated the progression of CKD were detected in the urine. These microRNAs were expressed in the kidneys of mice, as well as in those of dogs, cats, and humans, and could be used as an early diagnostic tool (biomarkers) for CKD.

研究分野：獣医腎泌尿器学、分子形態学、分子生物学

キーワード：腎臓 microRNA バイオマーカー 尿 慢性腎臓病 モデルマウス イヌ・ネコ 糸球体

1. 研究開始当初の背景
急増する慢性腎臓病(CKD)動物と未来の獣医
腎泌尿器学のために

現在の問題点 : 伴侶動物で増加する悪性疾患 - chronic kidney disease(CKD) -

CKD は、1)明らかな腎障害の存在、2)腎機能の低下のいずれかまたは両方が慢性的に持続する状態とされ、獣医学では血中クレアチニンによるステージ分類が提唱されている。

近年、伴侶動物の高齢化を背景にCKD罹患率は急増し、イヌ・ネコの死亡要因の上位を占める。さらにCKDは、他の疾患、特に循環器疾患のリスクを増加させる悪性の基礎疾患である。CKD動物は輸液療法を生涯必要とし、動物・オーナーの負担は計り知れない。

現在の問題点 : 獣医CKD研究の遅延・診断ツール不足の原因 - 動物種差 -

唯一のCKD対策は早期発見と迅速な腎臓保護療法の導入にあるが、「動物種差」が獣医学のCKD研究・診療法開発を遅延させている。つまり、ヒトでは尿中アルブミンを代表とするバイオマーカー蛋白がCKD診断に応用されているが、獣医学では蛋白構造の種差が研究・臨床への応用を困難にし、実験動物を用いた研究でもその検出は高価・煩雑なキットに頼る。

加えて、CKDの病態もイヌとネコで異なることは臨床的に知られていた。一方、報告者は分子レベルでCKDの動物種差の原因に迫り、イヌでは濾過装置(糸球体)、ネコでは吸収装置(尿細管間質)に病変が首座し、これに「糸球体のスリット膜関連分子発現低下に対する感受性の種差」が関与することを報告した(Ichii et al, *Histol Histopathol* 2011)。即ち、獣医学に求められるCKD対策とは、動物種に合ったテーラーメイド研究・診断・治療法の実施である。

着想への経緯 : 次世代バイオマーカー - 尿中に出現するRNA -

これまで報告者は、CKDに罹患したマウス、イヌ、ネコの尿中に特定のRNAが出現し、その出現動態はCKD増悪と相関することを示してきた(Ichii et al, *Lab Invest* 2010; *Histol Histopathol* 2011; *Kidney Int* 2012; Kimura and Ichii et al, *PLoS One* 2011)。特に、腎臓に由来する尿中脱落細胞から検出されるmRNAは、腎局所病変の病理像を反映しており、尿中mRNA型の評価は腎病理型の非侵襲的予測に有用である。一方で、尿中mRNA評価の臨床応用には、構造的不安定性に問題点を抱える。そこで本研究では、マイクロRNA(miRNA)の分子生物学的特性に着目した。miRNAは短鎖のRNA(18-25bp)であり、標的mRNAと結合し、転写後調節因子として機能する。また、セントラルドグマの上流に位置するため、mRNAや蛋白よりも発現制御に動物種差が少なく、塩基配列も動物種間で高度

に保存されている。さらに、短鎖の核酸であるため、構造が安定しており、尿中でも分解されにくい。

本研究では、伴侶動物のCKD分子病態に関与するmiRNAを世界に先駆けて同定し、次世代の尿中バイオマーカーに応用する着想に至った。

着想への経緯 : CKDの尿中バイオマーカーmiRNA候補の発見 - miR-146a -

これまで伴侶動物は勿論、ヒトや実験動物でもCKDに関与するmiRNAの報告は無かった。一方、報告者はCKDモデルマウスの病理発生に関与し、かつ尿中に出現するmiRNA、「miR-146a」を世界に先駆けて同定している(Ichii et al, *Kidney Int* 2012)。miR-146aは間質の炎症細胞に局在し、間質病変の進行に関与すること、miR-146aはNF- κ Bシグナリング制御に参加し、下流のサイトカイン発現を調節していることを明らかにした。このように、動物の尿には明らかに「miRNAによるCKDサイン」が存在する。

2. 研究の目的
伴侶動物のCKDバイオマーカーmiRNAを確立する。

上記の背景およびこれまでの研究成果・解析技術を基に、伴侶動物の尿中に出現するCKDバイオマーカーmiRNAを同定し、そのmiRNAが制御する分子病態の詳細を解明後、miRNAの尿中検出を基盤とするCKD早期診断・非侵襲的病理予測法を確立することを本研究の最終目標とする。

3. 研究の方法
伴侶動物の腎臓に発現するmiRNAの同定

これまでイヌおよびネコの腎臓に発現するmiRNAは不明であり、ネコではmiRNA配列の情報すら無い。本研究では、北海道大学獣医学部の実習後に安楽死されたイヌ、他の研究目的で安楽死されたネコを利用し(研究協力者:北海道大学動物病院 獣医師、当研究室大学院生)、サンプルを収集した。腎機能数値が正常である個体を選抜し、検体より腎臓を採取後、腎臓の皮質と髄質に分けてtotal RNAを抽出し、ライブラリーを作製後、Small RNAシーケンスを行った。アライメントでmiRNAデータを抽出した。ネコのmiRNAについては、マウスのデータベース(NCBI137/mm9)を基に新規に分類した。

バイオマーカーmiRNA候補の選定

本解析では、報告者ら開発したCKDマウスを利用した(Ichii et al, *Histol Histopathol* 2008)。本モデルマウスは加齢性に糸球体腎炎を発症し、ついには尿細管間質病変を進行させる。その原因には自己免疫の異常が示唆されており、CKDモデルとして有用であることを報告してきた。

ビーズ灌流法(Takemoto et al, *Am J Pathol*

2002) によって、健常マウスおよびCKDモデルマウスから糸球体を分離し、total RNAを抽出後、東レ 3D-Gene mouse miRNA Oligo chips を用いてマイクロアレイ解析を行った(研究協力者: 東レ株式会社 担当)。健常マウスに比べて、CKDマウスの腎組織で有意に変動しているmiRNAをリストアップし、CKDの病態パラメーターとの相関を解析した。

バイオマーカーmiRNA候補の解析

の計画で選抜したバイオマーカーmiRNA候補について、イヌおよびネコに加え、ニワトリ、ウマ、ウサギ、トド、ウシ、ヤギおよびヒトの腎組織を用い、レーザーマイクロダイセクション法でその発現を解析した。また、CKDの病態における役割をCKDモデルマウスおよび*in vitro*アッセイ系を用いて精査した。ヒトの健常群および病態群(IgA腎症、ループス腎炎)の腎臓および尿サンプルを収集し、候補miRNAの変動が意味する臨床的な意義を検討した。

4. 研究成果

伴侶動物の腎臓に発現するmiRNAの同定

解析したすべての腎組織において、miRNAの含有率は85%以上であった。

Small RNA シークエンス解析の結果、イヌの腎皮質と髄質で各々295種と297種のmiRNAが検出された。一方、ネコの腎皮質と髄質で各々277種と276種のmiRNAが検出された。

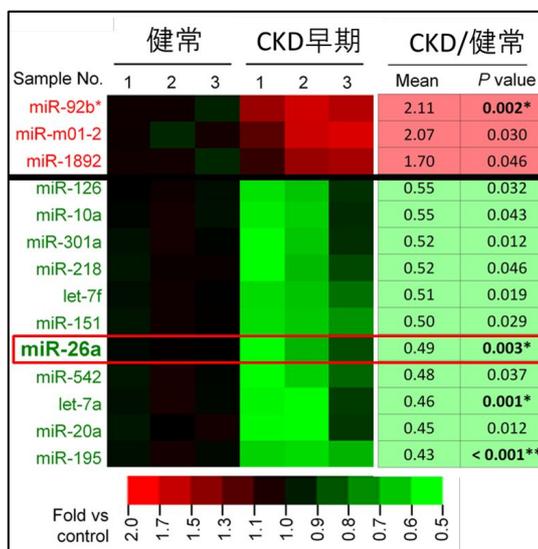
イヌの腎皮質ではmiR-323を含む45種が、ネコの腎皮質ではmiR-192を含む41種が、イヌの腎髄質ではmiR-132を含む11種が、ネコの腎髄質ではmiR-20aを含む78種が強く発現していた。イヌとネコに共通し、腎皮質で髄質よりも2倍以上強く発現するmiRNAは31種、一方、腎髄質で皮質よりも2倍以上強く発現するmiRNAは14種検出された。

本研究結果によって、伴侶動物の腎臓に発現するmiRNAデータベースの基礎がつくられた。全miRNAのデータはweb上で閲覧可能である(<http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/handle/2115/56453>)。各miRNAは、糸球体や尿細管間質で機能制御を担うと考えられる。

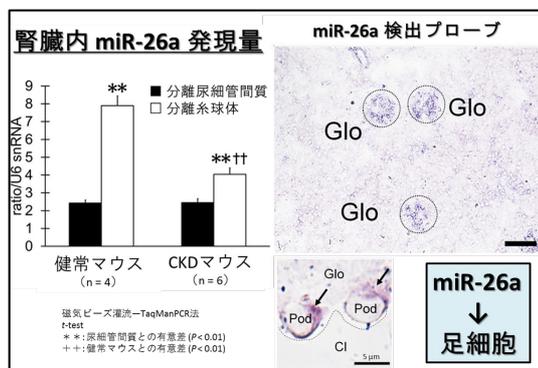
バイオマーカーmiRNA候補の選定

次いで、バイオマーカーmiRNA候補選抜のため、CKDモデルマウス(B6.MRLc1)を主に解析した。CKDマウスは膜性増殖性糸球体腎炎を発症し、メサングウム増殖、糸球体基底膜の二重化・免疫複合体沈着、足細胞傷害、糸球体でスリット膜関連分子の発現低下ならびに炎症メディエーターの発現増強等を示す。

CKDマウスの糸球体をビーズ法で分離し、健常マウスとのmiRNAマイクロアレイ比較解析を実施した(右上図)。



4種のmiRNA(miR-92b*, let-7a, miR-26a, miR-195)がCKDマウスの病態初期に有意に変動するmiRNAとして同定された。特に、let-7a、miR-26a、およびmiR-195は健常マウスの糸球体に強く発現し、CKDマウスでその発現は低下することをTaqManPCRで明らかにした。miRNAの発現局在を*in situ* hybridization法で解析し、糸球体構成細胞に陽性シグナルが得られた(下図、miR-26aのみ示す)。

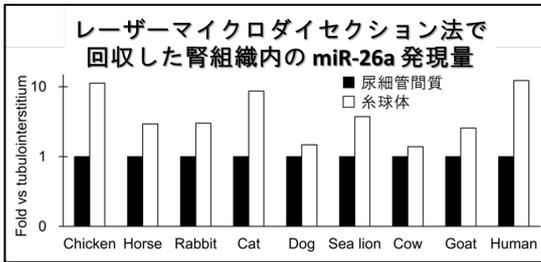


さらに、let-7a、miR-26a、およびmiR-195はマウスの尿沈渣を除いた尿上清から検出可能であった。このデータより、これらのmiRNAはイヌおよびネコの腎臓にも発現していた。これらの作業によって、糸球体特異的かつ動物種に共通して発現し、さらには尿でも検出するバイオマーカーmiRNA候補を選抜した。

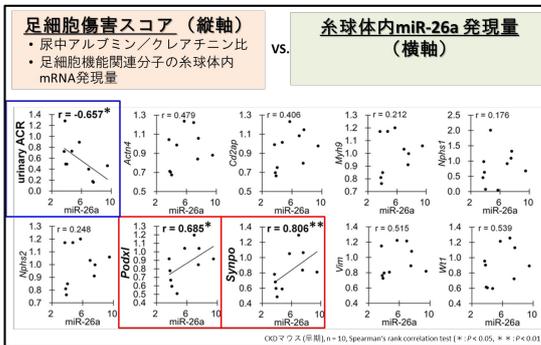
バイオマーカーmiRNA候補の解析

の結果より、4種のmiRNA(miR-92b*, let-7a, miR-26a, miR-195)がCKDマウスの病態初期に有意に変動するmiRNAとして同定されたが、特にマウスの糸球体、また、イヌおよびネコの腎臓で発現量の高いmiR-26aに着目した。

miR-26aはマウスでは糸球体の足細胞(ポドサイト)に強く発現し、イヌ、ネコの腎臓でも糸球体に強く発現する傾向にあった。ニワトリ、ウマ、ウサギ、トド、ウシ、ヤギ、ヒトの腎臓でも同様の傾向を得た(次頁図)。



病態時の miR-26a 発現を CKD マウス、ループス腎炎および IgA 腎症患者のサンプルで精査した。CKD マウスの糸球体内 miR-26a 発現量は健常群よりも低いが、ループス腎炎および IgA 腎症患者でも同様の傾向を得た。CKD マウスにおいて、糸球体内 miR-26a 発現量は尿中アルブミン/クレアチニン比と負の相関を、糸球体内ポドサイト機能関連分子の mRNA 発現量と正の相関を示した(下図)。



近年、尿中 miRNA はエクソソームと呼ばれる小胞に含まれることが示唆されている。マウスおよびヒトにおいて、各病態群の尿中エクソソーム内 miR-26a 量は健常群よりも高かった。

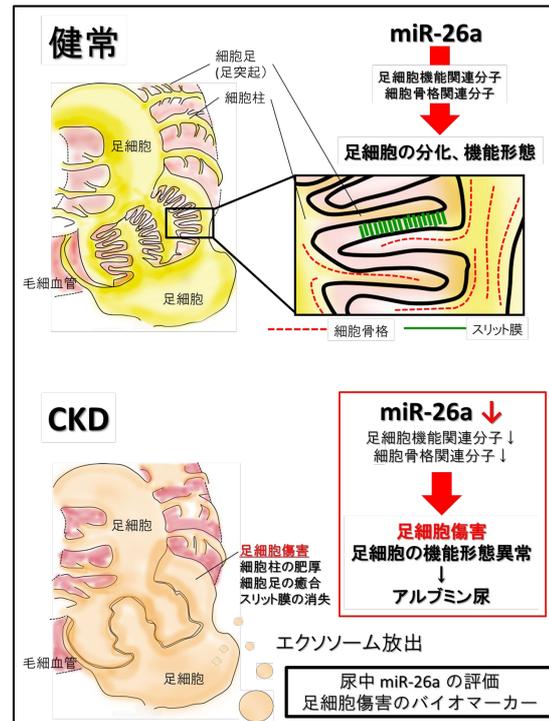
in vitro 培養系で、マウス不死化ポドサイト株の miR-26a の発現量は、メサングウム細胞株や集合管上皮細胞株よりも高く、分化と共にその発現が上昇した。ポドサイト株の miR-26a 発現量は、ポドサイト機能関連分子の mRNA 発現量と正の相関を示し、LPS あるいはピューロマイシンを用いた薬物誘導性細胞傷害によって減少した。細胞傷害後、培養液中エクソソーム由来 miR-26a は増加した。

以上、miR-26a は動物の腎臓、特に糸球体に強く発現する傾向にあり、ポドサイトの分化や細胞骨格を制御し、病態時にはその発現が減少することを明らかにした。エクソソームのデータから考察すると、傷害を受けたポドサイトは尿中に miR-26a を含むエクソソームを放出することが示唆され、CKD 進行を示す新たな尿中サインとして興味深い(右図)。

miR-26a は CKD の次世代バイオマーカー候補である。また、その診断応用には尿中エクソソームの評価が鍵を握る。一方で、未だ獣医臨床的な知見は不足しており、イヌおよびネコのサンプルを充足し、今後も臨床的データを蓄積していくことが課題である。

報告者は今後、伴侶動物の尿中エクソソームに由来する miRNA に着目して研究を進める。

バイオマーカーに有用な miRNA を複数見出し、本研究の最終目標である「miRNA の尿中検出を基盤とする CKD 早期診断・非侵襲的病理予測法を確立」を目指す。



5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 8 件)

1. Ichii O (計 8 名、1 番目). Decreased miR-26a expression correlates with the progression of podocyte injury in autoimmune glomerulonephritis. *PLoS One*. 2014. 9(10):e110383. doi: 10.1371/journal.pone.0110383. 査読有.
2. Kimura J, Ichii O(計 6 名、2 番目). Overexpression of Toll-like receptor 8 correlates with the progression of podocyte injury in murine autoimmune glomerulonephritis. *Sci Rep*. 2014. 4:7290. doi: 10.1038/srep07290. 査読有.
3. Ichii O(計 8 名、1 番目). Podocyte injury caused by indoxyl sulfate, a uremic toxin and aryl-hydrocarbon receptor ligand. *PLoS One*. 2014. 9(9):e108448. doi: 10.1371/journal.pone.0108448. 査読有.
4. Okada Y, Ichii O(計 5 名、3 番目). Pathogenetic role of an autoimmune susceptibility locus derived from MRL/MpJ strain chromosome 1 in chronic pancreas inflammation. *Lupus*. 2014. 23(11):1112-1123. doi:10.1177/0961203314536249. 査読有.
5. Ichii O(計 6 名、1 番目). MicroRNA expression profiling of cat and dog

- kidneys. *Res Vet Sci*. 2014. 96(2):299-303. doi:10.1016/j.rvsc.2014.01.003. 査読有.
6. Kimura J, **Ichii O**(計 6 名、2 番目). BXSb-type genome causes murine autoimmune glomerulonephritis: pathological correlation between telomeric region of chromosome 1 and Yaa. *Genes Immun*. 2014. 15(3):182-189. doi: 10.1038/gene.2014.4. 査読有.
 7. Kosenda K, **Ichii O**(計 5 名、2 番目). BXSb/MpJ-Yaa mice develop autoimmune dacryoadenitis with the appearance of inflammatory cell marker messenger RNAs in the lacrimal fluid. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2013. 41(8):788-797. doi: 10.1111/ceo.12083. 査読有.
 8. Kimura J, **Ichii O**(計 6 名、2 番目). Close relations between podocyte injuries and membranous proliferative glomerulonephritis in autoimmune murine models. *Am J Nephrol*. 2013. 38(1):27-38. doi: 10.1159/000353093. 査読有.
- [学会発表](計 21 件)
1. **O. Ichii**, D. Shiozuru, S. Otsuka-Kanazawa, Y. Kon. Interleukin 1 Family, Member 6 is A Useful Histopathological Diagnostic Marker in Acute Kidney Injury. *The 5th Congress of Asian Association of Veterinary Anatomists*. 2015 年 2 月 12 日. インドネシア バリ.
 2. **Osamu Ichii**, Saori Otsuka, Akira Yabuki, Taro Horino, Teppei Nakamura, Yasuhiro Kon. Greb1, a Gene Responsible for the Development of Renal Cysts Originating in the Distal Tubules in DBA/2 Mice. *American Society of Nephrology*. 2014 年 11 月 14 日. アメリカ フィラデルフィア.
 3. Junpei Kimura, **Osamu Ichii**, Teppei Nakamura, Taro Horino, Saori Otsuka, Yasuhiro Kon. Toll-Like Receptor 8 Contributes to Podocyte Injury in Murine Autoimmune Glomerulonephritis. *American Society of Nephrology*. 2014 年 11 月 14 日. アメリカ フィラデルフィア.
 4. Junpei Kimura, **Osamu Ichii**, Saori Otsuka, Yasuhiro Kon. Toll-like receptor 8 contributes to podocyte injury in murine autoimmune glomerulonephritis. *The 2nd Sapporo Summer Seminar for One Health*. 2014 年 09 月 24 日. 北海道札幌市. 北海道大学.
 5. 木村 純平、**市居 修**、大田 寛、中村 鉄平、堀野 太郎、大塚 沙織、昆 泰寛. Toll-like receptor 8 は自己免疫性糸球体腎炎の足細胞傷害に關与する. *第 157 回 日本獣医学会学術集会*. 2014 年 9 月 9 日. 北海道札幌市. 北海道大学.
 6. 塩水流 大地、**市居 修**、中村 鉄平、大塚 沙織、昆 泰寛. 腎障害時にみられる MRL/MpJ マウスの特別な修復過程について. *第 157 回 日本獣医学会学術集会*. 2014 年 9 月 9 日. 北海道札幌市. 北海道大学.
 7. **市居 修**. miR-26a - 腎糸球体上皮細胞の機能形態を制御する短鎖 RNA. *第 157 回 日本獣医学会学術集会 日本獣医解剖学会シンポジウム*. 2014 年 9 月 10 日. 北海道札幌市. 北海道大学.
 8. **市居 修**、大塚 沙織、矢吹 映、堀野 太郎、中村 鉄平、昆 泰寛. Greb1 - DBA/2Cr マウスに出現する遠位尿管由来嚢胞の原因遺伝子候補. *第 157 回 日本獣医学会学術集会*. 2014 年 9 月 11 日. 北海道札幌市. 北海道大学.
 9. 塩水流 大地、**市居 修**、中村鉄平、大塚沙織、昆 泰寛. 腎障害モデルにおける腎組織修復過程の観察 MRL/MpJ マウスが具備する創傷治癒形質との関連. *第 7 回 日本獣医腎泌尿器学会学術集会*. 2014 年 8 月 24 日. 東京都港区. 発明会館ホール.
 10. **市居 修**、大塚 沙織、中村 鉄平、木村 純平、堀野 太郎、昆 泰寛. 足細胞の機能形態を制御する miR-26a 糸球体傷害のバイオマーカー核酸になり得る. *第 7 回 日本獣医腎泌尿器学会学術集会*. 2014 年 8 月 24 日. 東京都港区. 発明会館ホール.
 11. 木村 純平、**市居 修**、大田 寛、横山 望、森下 啓太郎、星野 有希、高木 哲、大塚 沙織、昆 泰寛. 伴侶動物の腎臓における Toll-like receptor8 の発現解析 糸球体足細胞傷害に關与するバイオセンサー. *第 7 回 日本獣医腎泌尿器学会学術集会*. 2014 年 8 月 24 日. 東京都港区. 発明会館ホール.
 12. **Osamu Ichii**, Saori Otsuka, Yasuhiro Kon. The candidate factors for the development of chronic kidney disease. *The 16th SNU-HU Symposium Current Advances in Veterinary Medicine*. 2013 年 12 月 13 日. 韓国ソウル.
 13. **市居 修**、大塚沙織、矢吹 映、大田 寛、堀野太郎、昆 泰寛. 伴侶動物の腎臓に発現する miRNA のデータベース構築 - 動物種共通のバイオマーカー開発を目指して. *第 156 回 日本獣医学会学術集会*. 2013 年 9 月 20 日. 岐阜県岐阜市. 岐阜大学.
 14. 岡田祐樹、**市居 修**、大塚 沙織、昆 泰

- 寛. 慢性膵炎の系統差に関する研究-MRL マウス 1 番染色体テロメア領域の影響. 第156回 日本獣医学会学術集会. 2013年9月20日. 岐阜県岐阜市. 岐阜大学.
15. **市居 修**, 大塚沙織, 中村鉄平, 堀野太郎, 昆 泰寛. 腎臓病の microRNA 解析 動物種共通のバイオマーカー開発を目指して. 第6回 日本獣医泌尿器学会学術集会. 2013年8月25日. 東京都中央区. 明治ホールディングス株式会社.
 16. 木村純平, **市居 修**, 大塚沙織, 昆 泰寛. 糸球体腎炎モデルマウスの足細胞傷害-Toll-like receptor ファミリーの関与. 第6回 日本獣医泌尿器学会学術集会. 2013年8月25日. 東京都中央区. 明治ホールディングス株式会社.
 17. **市居 修**, 大塚沙織, 中村鉄平, 野元由佳, 橋本善春, 堀野太郎, 昆 泰寛. 糸球体病変を制御する miRNA の探索 - 動物種共通のバイオマーカー開発を目指して -. 第155回 日本獣医学会学術集会. 2013年3月29日. 東京都文京区. 東京大学.
 18. 木村純平, **市居 修**, 大塚沙織, 佐々木隼人, 橋本善春, 昆 泰寛. 糸球体腎炎モデルマウスにおける足細胞傷害の解析. 第155回 日本獣医学会学術集会. 2013年3月29日. 東京都文京区. 東京大学.
 19. **市居 修**, 若新 英史, 村上 太一, 堀野 太郎, Huiyan Lu, Hideko Takahashi, Zervas Patricia, 大塚 沙織, 橋本 善春, 昆 泰寛, Jeffrey Kopp. 尿毒症物質インドキシル硫酸は腎系球体上皮細胞傷害に関与する 芳香族炭化水素受容体のリガンド作用. 第154回 日本獣医学会学術集会. 2012年9月16日. 岩手県盛岡市. 岩手大学.
 20. **Osamu Ichii**, Huiyan Lu, Hideko Takahashi, Patricia M. Zervas, Jeffrey B. Kopp. The Uremic Toxin Indoxyl Sulfate Causes Podocyte Injury In Vivo and In Vitro. *American Society of Nephrology*. 2012年11月14日. アメリカ サンディエゴ.
 21. Junpei KIMURA, **Osamu ICHII**, Saori OTSUKA, Hayato SASAKI, Yoshiharu HASHIMOTO, Yasuhiro KON. Podocyte injury in murine glomerulonephritis. *The 4th Congress of Asian Association of Veterinary Anatomists*. 2012年10月25日. タイ プーケット.

〔図書〕(計5件)

1. **市居 修**(九郎丸 正道監修) 学窓社, 猫の解剖カラーリングアトラス「泌尿器」, 2014, 64-65.
2. **市居 修**(日本獣医解剖学会編) 学窓

社, 獣医組織学第六版 第12章「腎臓」, 2014, 181-192.

3. **市居 修**(日本獣医解剖学会編) 学窓社, 獣医組織学第六版 第19章「家畜の組織学」, 2014, 312-314.
4. **市居 修**(富野康日己, 柏原直樹, 成田一衛編) 中外医学社, Annual Review 腎臓「腎臓病の miRNA 解析」, 2013, 80-87.
5. **市居 修**(日本獣医解剖学会編) 学窓社, 獣医解剖・組織・発生学 第10章「泌尿器系」, 2012, 129-137.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

研究成果の紹介

1. 北大・獣医・解剖学教室ホームページ (<http://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/anat/index.html>)
2. 北海道大学大学院獣医学研究科・獣医学部 ホームページ (<http://www.vetmed.hokudai.ac.jp/>)
3. 知のフロンティア - 北海道大学の研究者は、いま 第3号 獣医学部・大学院獣医学研究科 (<http://www.hokudai.ac.jp/bureau/nyu/frontier/03.html>)
4. 北海道大学学術成果コレクション: HUSCAP(<http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/index.jsp>)

6. 研究組織

(1)研究代表者

市居 修 (ICHII OSAMU)

北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授

研究者番号: 60547769