

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 9 日現在

機関番号：82601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670028

研究課題名(和文)骨形成における小胞体カウンターイオンチャネルの機能的役割

研究課題名(英文)Functional role of endoplasmic reticulum counter-ion channel in bone formation

研究代表者

山崎 大樹(Yamazaki, Daiju)

国立医薬品食品衛生研究所・薬理部・主任研究官

研究者番号：40467428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：Tric-b欠損マウスにおいて成熟骨芽細胞でのカルシウムハンドリング異常を発端として、コラーゲンの小胞体内蓄積、骨基質におけるコラーゲン含量低下を経て、主要骨格の骨密度低下及びミネラル化障害に至ったと考察される。一方で破骨細胞に異常は観察されなかったことから骨形成不全における破骨細胞の関与はないと推察される。

以上より、Tric-b欠損マウスが新しいOIモデル動物として確立され、Tric-b欠損マウスは将来的にOIの病態生理学的な研究に対して類のない実験系を提供し、OI関連症状に対する有効な治療法の探索および骨関連疾患に対する治療薬の開発に役立つことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Deletion and point mutations in TRIC-B occur in autosomal recessive osteogenesis imperfecta pedigrees. Tric-b-knockout mice develop neonatal respiratory failure and exhibit poor bone ossification. We found that bones from the knockout mice contained bone-related cells preserving regular histological features, but collagen matrix deposition was reduced. Osteoblasts, the bone-depositing cells, from Tric-b-knockout mice exhibited reduced Ca²⁺ release from the ER and increased store Ca²⁺ contents, which was associated with ER swelling. These cells also had impaired collagen production without a decrease in collagen-encoding transcripts, consistent with a defect in trafficking of collagen through the ER. In contrast, osteoclasts, the bone-degrading cells, from Tric-b-knockout mice were comparable to those from wild-type mice. Thus, TRIC-B function is essential to support the large amount of collagen that active osteoblasts produce to enable bone mineralization.

研究分野：薬理学、生理学

キーワード：TRICチャネル 骨芽細胞 破骨細胞 骨形成不全症

1. 研究開始当初の背景

TRIC (trimeric intracellular cation) チャンネルは小胞体 Ca^{2+} 放出チャンネルであるリアノジン受容体や IP_3 受容体からの Ca^{2+} 放出に連動して機能するカウンターイオンチャンネルの 1 つである。TRIC-A および B の 2 種類のサブタイプが存在し、小胞体膜上で 3 つの膜貫通構造を有し 3 量体を形成する。Tric 両サブタイプ欠損マウスは胎生 10 日程で心筋細胞小胞体の Ca^{2+} 過負荷により心不全様症状を呈して死に至る。Tric-a 欠損マウスは正常に成育・繁殖するが、若年性高血圧および骨格筋異常収縮が観察された。一方で、Tric-b 欠損マウスは II 型肺胞上皮細胞における Ca^{2+} シグナリング異常の結果、肺胞形成不全により呼吸困難で出生直後に死に至る。

小児慢性特定疾患に指定されている骨形成不全症は、易骨折性・進行性の骨変形などの骨脆弱性を示す病変に加え、結合組織の異常を示す先天性疾患であり、単なる骨量減少から周産期死まで幅広い重症度を示す。一般的に、骨形成不全症は結合組織の主要成分である I 型コラーゲンの量的あるいは質的異常により生じるが、近年の研究によりヒトの *LEPRE1*、*PP1B*、*SERP1H1*、*FKBP10* および *IFITM5* などが骨形成不全症の原因遺伝子として同定された。また最近、2 つのグループから立て続けにヒト骨形成不全症の原因遺伝子として *TMEM38B* (*TRIC-B*) が新規に報告された。これはヒト *TRIC-B* 遺伝子のエキソン 4 が欠失することでフレームシフトが生じ早期に終止コドンが出現する変異であり、本来 3 つの膜貫通領域を有するヒト *TRIC-B* タンパク質が変異により膜貫通構造の異常をきたし、チャンネル機能の低下を引き起こすことが予想される。

2. 研究の目的

ヒト *TRIC-B* が骨形成不全症の新規原因遺伝子として同定されたことから、本研究では新生致死を示す *Tric-b* 欠損マウスが骨形成不全症の表現型となることを示し、さらには骨形成不全症の発症機序の解明を目指す。

3. 研究の方法

解剖学的解析

本研究は京都大学動物実験委員会の承認を得た上で、動物実験規制に従って遂行した。全身骨格標本作成のため、マウスを 70%エタノールにより固定し、内臓を取り出した。皮膚と脂肪

を除去後、標本をアルシアンブルー及びアリザリンレッド染色した。組織学的分析のため、マウス大腿骨を 10%ホルマリンにて固定し、パラフィン包埋後、組織切片を作製した。石灰化部位は calcium kit にて可視化した。ALP, TRAP 及び Safranin-O 染色は染色キットを用い、細胞外基質 (ECM) コラーゲンは picosirius red stain kit にて染色した。顕微鏡写真は Image J にて定量分析した。

Micro-CT 解析

マウス大腿骨を 70%エタノールにて固定し、Kureha Special Laboratory において micro-CT スキャニング解析を行った。三次元の構造写真は局所の骨密度に基づき、TRI/3D-BON software にて再構成した。その後、骨幹中心部位の横断面写真を作成した。

基質小胞

四肢骨の石灰化部位を採取し、破碎後、コラーゲナーゼ消化した。組織懸濁液をナイロンフィルターに通過させ、遠心にて組織細片を除去した。上清部分を超遠心し、基質小胞を得た。基質小胞は 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ アスכולビン酸及び 2 mM β -グリセロフォスフェート含有培地に懸濁させ、5 日間インキュベートした。形成した無定形沈殿は 2% パラホルムアルデヒド、2.5% グルタルアルデヒド及び 0.1 M カコジル酸ナトリウム (pH 7.4) 溶液で固定後、脱水した。固定検体を、field emission scanning EM を備えた energy dispersive X-ray spectrometer にて分析した。Ca と P の原子百分率は commercial software (AUTO-ZAF プログラム) にて計算した。

RT-PCR 解析

総 RNA は Isogen を用いて組織から抽出し、cDNA の合成に使用した。合成 cDNA を用いて定量的 RT-PCR 解析を行った。Cycle threshold (Ct) 値は増幅曲線から求め、それぞれの反応の相対的 mRNA 含量の指標とした。

骨芽細胞の培養

骨芽細胞は新生児マウス頭蓋骨から collagenase 及び dispase を含む消化液で単離し、10% FCS 含有増殖培地にて増殖させた。セミコンフルエント状態で、骨芽細胞を再播種し、100 ng/ml BMP-2 及び 10% FCS 含有分化培地にて 5-10 日間刺激した。培養皿中の石灰化はアリザリンレッド S 染色にて可視化した。結合した色素を 10%酢酸にて溶出させ、吸光度測定により定量分析した。ECM コラーゲン検出のため、ホモジナイズした培養細胞を I 型コラーゲン抗体及

び HRP 結合二次抗体と反応させた。免疫反応は diaminobenzidine substrate にて可視化し、tetramethyl benzidine substrate にて定量した。細胞内コラーゲン組成解析のため、培養骨芽細胞を deoxycholate 含有緩衝液中でホモジナイズし、ECM 及び細片を遠心によって除去した。得られた上清は細胞内分画に相当し、これをもちいて免疫プロット法により解析した。

Ca²⁺イメージング

Glass bottom dish 上に培養した骨芽細胞に Fura-2AM を負荷しインキュベート後、レシオメトリック解析を行った。使用した灌流液は以下の通りである。(in mM) : 150 NaCl, 4 KCl, 1 MgCl₂, 2 CaCl₂, 5.6 glucose, and 5 HEPES (pH 7.4)。

4. 研究成果

Tric-b 欠損マウスにおける OI 様表現型

Tric-b 欠損マウスは呼吸不全により新生致死となることから、本研究では Tric-b 遺伝子の骨形成に対する影響を胎児 18 日 (E18) 及び出生直後 (P0) のマウスを用いて解析した。全身骨格標本において、Tric-b 欠損マウスの体の大きさは野生型マウスに比べて若干小さかったが、全身骨格の巨視的特徴は正常であった (Fig. 1A)。アリザリンレッド染色にてカルシウム沈着物を検出した結果、野生型マウスでは全ての骨表面を均一に呈色したが、Tric-b 欠損マウスの頭蓋骨、肋骨及び大腿骨等の主要骨格において、石灰化障害が観察された。従って、Tric-b 欠損マウスは先天的な全身性骨形成障害を示し、OI モデル動物として有用であると考えられた。

カルシウム沈着が可視化可能な von Kossa 染色にて、Tric-b 欠損マウス由来大腿骨の皮質骨及び海面骨とも不十分な石灰化を示した (Fig. 1B)。また、Tric-b 欠損マウスにおいて頭蓋骨皮質骨組織層部分の薄層化が観察された (Fig. 1C)。胎生期骨の成長は循環血中ミネラルに依存するが、E18 の Tric-b 欠損マウス血清中 Ca²⁺ 及びリン酸レベルは正常範囲内であった (図示せず) ことから、OI 様表現型は循環血中ミネラル低下が原因ではないと考えられた。

正常な骨化メカニズムは 2 種類に分類される。頭蓋骨に代表される膜内骨化は結合組織中で未分化間葉細胞が骨芽細胞に分化し、骨を直接形成する。一方、大腿骨に代表される軟骨内骨化は軟骨が骨組織に置換されることで骨が形成される。Tric-b 欠損マウスでは、両種の骨が骨化不良を示しており、軟骨細胞より骨芽細胞或

いは破骨細胞の機能変化が OI 様表現型を引き起こす主要な要因であると考えられた。

Tric-b 欠損骨基質中のコラーゲン低下

骨芽細胞は骨形成時に ECM 主要成分であるコラーゲンを活発に産生する。大腿骨におけるコラーゲン線維をピクロシロウスレッド染色した結果、Tric-b 欠損骨の ECM 構築が不十分であることが示された (Fig. 1D)。von Kossa 染色と同様に、Tric-b 欠損骨におけるコラーゲン線維は骨膜直下に少量存在し、中心部位は全く染色されなかったことから、コラーゲン含量低下が Tric-b 欠損骨の骨形成障害に起因する可能性が示唆された。以上より、Tric-b 欠損骨芽細胞におけるコラーゲン合成減少あるいは、破骨細胞による ECM 吸収亢進のいずれかあるいは両方が Tric-b 欠損マウスにおける骨形成不全の原因と予想された。骨形成の間、細胞外オルガネラである基質小胞は骨芽細胞から出芽し、Ca²⁺ 及びリン酸を取り込み、ヒドロキシアパタイトを形成した後、ECM 上に沈着する。単離された基質小胞がヒドロキシアパタイト形成能を有することから、Tric-b 欠損基質小胞におけるヒドロキシアパタイト形成能について検討した。その結果、基質小胞の形状に大きな異常は観察されなかった。さらに基質小胞自体の回収率、タンパク質組成及び石灰化における有意な差は観察されなかった (図示せず)。従って、基質小胞の産生不足・機能障害が OI 様表現型の原因ではないことが考えられた。

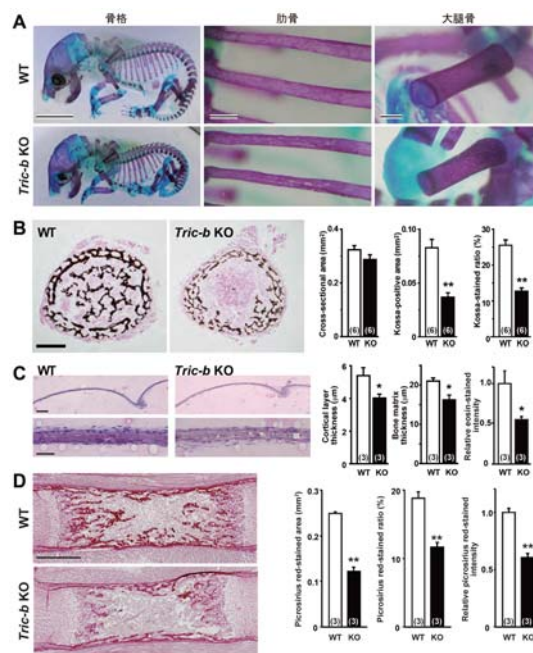


図 1 Tric-b 欠損新生児における骨石灰化障害

Tric-b 欠損骨芽細胞における小胞体膨潤化

骨芽細胞前駆細胞及び未成熟骨芽細胞は骨膜に存在し、骨膜直下から骨幹への移入を経て成熟骨芽細胞となる。成熟したアルカリフォスファターゼ陽性骨芽細胞は ECM 産生活性を有し、細胞内にはコラーゲン線維を含む高電子密度の層状粗面小胞体 (rER) が存在する。骨成熟化過程において、骨芽細胞は大量の ECM 及び基質小胞を産生し、基質に囲まれ骨細胞となることが知られている。電子顕微鏡解析により、顕著に膨潤化した rER を有する異常骨芽細胞が *Tric-b* 欠損大腿骨にて頻繁に検出された (Fig. 2A 上段)。 *Tric-b* 欠損マウスにおける、膨潤化した層状 rER を有する骨芽細胞の割合は $57.9 \pm 3.4\%$ (4 mice) であった (Fig. 2B)。一方で、このような膨潤化した rER は骨膜付近に存在している未成熟骨芽細胞及び石灰化した基質によって囲まれた骨細胞では検出されなかった (図示せず)。膨潤化した rER を含有した活発な骨芽細胞は野生型マウスにおいても存在したが、 *Tric-b* 欠損骨芽細胞に比べて、rER 膨潤化の程度は相対的に軽度であり、出現頻度もはるかに低かった (Fig. 2B, $4.5 \pm 2.1\%$, 4 mice)。従って、大量の ECM コラーゲン産生の際、 *Tric-b* 欠損骨芽細胞では著しく膨潤化した rER が頻繁に出現することが明らかとなった。活発な骨芽細胞において、ゴルジ体とコラーゲン線維を含有する分泌小胞は rER 近傍に存在する。 *Tric-b* 欠損骨芽細胞において、ゴルジ体及び分泌小胞の微細構造形態は正常であったが、分泌小胞の出現頻度及び電子密度が低下していた (Fig. 2A 中段)。これらの観察結果から、 *Tric-b* 欠損細胞の分泌小胞内コラーゲン含有量の著しい低下が考えられる。野生型マウス骨では、ECM に大量のコラーゲン線維基質と基質小胞が存在している。それに対して、 *Tric-b* 欠損骨芽細胞周囲では ECM 線維がほとんど観察されず、分泌小胞内のコラーゲン減少の観察結果と一致していた (Fig. 2A 下段)。膨潤化 rER、正常なゴルジ体及び分泌小胞の減少を熟慮すると、 *Tric-b* 欠損骨芽細胞においてコラーゲン選別と輸送過程に関与する、コートタンパク質複合体 II (COP II) 小胞によって制御されるコラーゲンの rER からゴルジ体への輸送が主に障害されていることが推察される。一方で、 *Tric-b* 欠損骨における破骨細胞の微細構造異常は観察されなかった (図示せず)。

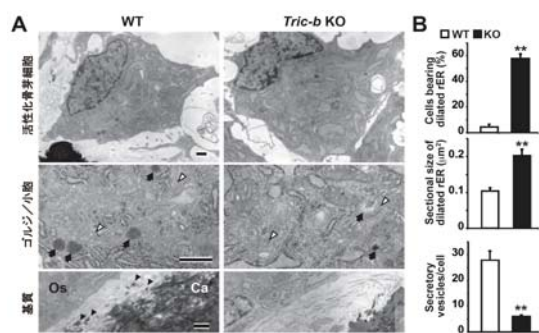


図 2 *Tric-b* 欠損骨芽細胞での微細構造異常

Tric-b 欠損培養骨芽細胞におけるコラーゲン産生障害

培養骨芽細胞調製のため、新生児マウス頭蓋骨から骨芽細胞前駆細胞を単離し、 *in vitro* 培養した。その後、骨形成タンパク質 (BMP-2) の刺激により骨芽細胞への分化成熟を誘導した。 *Tric-b* 欠損及び野生型骨芽細胞前駆細胞は正常な増殖速度を示した。BMP-2 で誘導された野生型成熟培養骨芽細胞では、高密度なミネラル沈着及びコラーゲン細胞外基質の正常形成が観察された。しかし、 *Tric-b* 欠損培養骨芽細胞では、石灰化が不十分であり、ECM 中のコラーゲンが減少していた (Figs. 3A-B)。 *Tric-b* 欠損及び野生型骨芽細胞において、コラーゲン mRNA 発現レベルは違いがないにもかかわらず、細胞内コラーゲン成分を解析した結果、 *Tric-b* 欠損骨芽細胞内コラーゲン含量の有意な上昇が検出された (Fig. 3C)。

免疫細胞染色結果より、培養骨芽細胞内のコラーゲン陽性シグナルは一般的に細胞質中では網目構造を形成し、rER 内に存在していると考えられる (Fig. 3D 左)。高密度コラーゲン蓄積はわずかな野生型骨芽細胞においてのみ観察された (Fig 3D 真ん中)。しかし、 *Tric-b* 欠損培養骨芽細胞では、このようなコラーゲンの高密度蓄積が高頻度に出現しており (棒グラフ左)、その大きさも野生型培養骨芽細胞に比べて上昇していた (Fig. 3D 右及び棒グラフ右)。細胞内小器官マーカーとの二重染色により、 *Tric-b* 欠損培養骨芽細胞では、コラーゲン陽性シグナルが ER マーカーであるカルボキシル末端 KDEL とよく重なったが、ゴルジ体マーカー GM130 とは重ならなかった (Fig. 3E)。この細胞化学的な異常は *Tric-b* 欠損大腿骨で観察された成熟骨芽細胞の異常な微細構造の観察結果と一致していた。コラーゲン陽性シグナルの蓄積は *in vivo* の膨潤化 rER の観察結果に相当する可能性が考

えられる。以上よりコラーゲン含有の rER の著しい膨大は *Tric-b* 欠損骨芽細胞の ECM 産生障害に寄与することが示唆された。

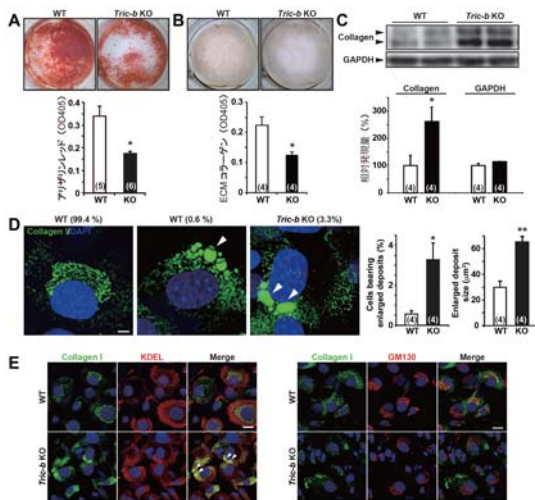


図 3 *Tric-b* 欠損骨芽細胞における生化学及び細胞化学的異常

Tric-b 欠損培養骨芽細胞における Ca^{2+} ハンドリング異常

TRIC-B 欠失は細胞内カルシウムハンドリングの異常をもたらすことが過去に報告されている。そこで Ca^{2+} ハンドリングに対する影響を調べるため、*Tric-b* 欠損培養骨芽細胞を用いて Fura-2 による Ca^{2+} イメージング解析を行った。骨芽細胞において、エンドセリン受容体 ET-A 及びプリン作動性 P2Y 受容体など G タンパク質共役型受容体活性化に応答して、ホスファチジルイノシトール (PI) の代謝が刺激され、 IP_3 誘導性 Ca^{2+} 放出が発生することがすでに知られている。通常濃度の Ca^{2+} 及び Ca^{2+} フリー灌流液中で、*Tric-b* 欠損骨芽細胞の静止状態 Ca^{2+} レベルは正常範囲に維持されるが、エンドセリン-1 及び ATP で誘発される一過性の Ca^{2+} 放出は有意に低下していた (Figs. 4A 及び B)。障害された Ca^{2+} トランジェント反応は PI 代謝の障害によるものではないことは関連する遺伝子の発現量解析により示唆された。さらに、*Tric-b* 欠損細胞において小胞体 Ca^{2+} ポンプ阻害薬タプシガルギン及び Ca^{2+} イオノフォアであるイオノマイシンによって惹起される Ca^{2+} 応答の亢進が観察された。一方、両遺伝子型のストア作動性 Ca^{2+} 流入 (SOCE) 反応は同程度であった (図示せず)。従って、骨芽細胞において *Tric-b* の欠損は IP_3 誘発性 Ca^{2+} 放出を阻害することによって、 Ca^{2+} ストアに過剰な負荷をかけると考えられる。これと同様に、障害された Ca^{2+} 放出とストアの過剰負荷は *Tric-b* 欠損マウ

スの肺胞上皮細胞においても観察された。これらの細胞に共通して見られる異常は非興奮性細胞における TRIC-B チャンネルの主たる生理機能を示唆している。一方、培養骨芽細胞において、RyRs の mRNA 発現レベルは非常に低く、50 mM カフェインでは Ca^{2+} 反応を誘発できなかったことから、骨芽細胞はリアノジン・カフェイン感受性ストアを持っていないことが示唆された。一方で、破骨細胞では骨吸収活性や分化状態、 Ca^{2+} ハンドリング異常は観察されなかった。

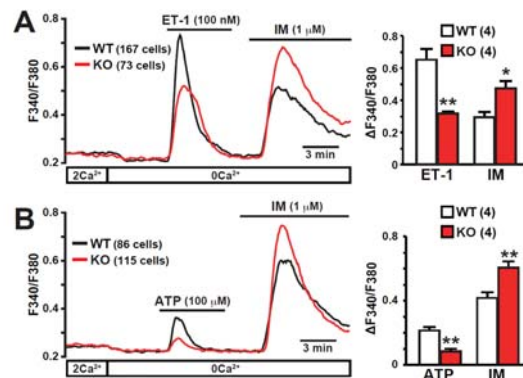


図 4 *Tric-b* 欠損骨芽細胞における Ca^{2+} ハンドリング異常

結論として、*Tric-b* 欠損マウスにおいて成熟骨芽細胞での Ca^{2+} ハンドリング異常を発端として、コラーゲンの小胞体内蓄積、骨基質におけるコラーゲン含量低下を経て、主要骨格の骨密度低下及びミネラル化障害に至ったと考察される。一方で破骨細胞に異常は観察されなかったことから骨形成不全における破骨細胞の関与はないと推察される。

以上より、*Tric-b* 欠損マウスが新しい OI モデル動物として確立され、*Tric-b* 欠損マウスは将来的に OI の病態生理学的な研究に対して類のない実験系を提供し、OI 関連症状に対する有効な治療法の探索および骨関連疾患に対する治療薬の開発に役立つことが期待される。

本研究成果による発表論文

Zhao C, Ichimura A, Qian N, Iida T, Yamazaki D, Noma N, Asagiri M, Yamamoto K, Komazaki S, Sato C, Aoyama F, Sawaguchi A, Kakizawa S, Nishin M, and Takeshima H. Impaired mineralization and compromised collagen production in *Tric-b*-knockout bone. *Science Signaling*. Accepted, May 2016

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 2 件)

1. Yamamoto S, Yamazaki T, Komazaki S, Yamashita T, Osaki M, Matsubayashi M, Kidoya H, Takakura N, Yamazaki D, Kakizawa S. Contribution of calumin to embryogenesis through participation in the endoplasmic reticulum-associated degradation activity. *Dev. Biol.*, 393, 33-43, 2014. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.06.024.

2. Gyobu S, Miyata H, Ikawa M, Yamazaki D, Takeshima H, Suzuki J, Nagata S. A Role of TMEM16E Carrying a Scrambling Domain in Sperm Motility. *Mol. Cell Biol.*, 36, 645-659, 2015. doi: 10.1128/MCB.00919-15.

[学会発表](計 11 件)

①山崎大樹、陶晟辰、竹島浩、TRIC チャネルによる小胞体 Ca^{2+} 分布、第 56 回日本平滑筋学会総会、2014 年 8 月 6 日～8 日、横浜

②山崎大樹、竹島浩、血圧調節におけるカウンターイオンチャネルの機能的役割の解明、新血管膜輸送研究会 2014、2014 年 9 月 4 日～5 日、岡崎・生理学研究所

③山崎大樹、竹島浩、小胞体カウンターイオンチャネルによる細胞内カルシウム制御、第 86 回日本薬理学会年会、2015 年 3 月 18 日～20 日、名古屋国際会議場

④山崎大樹、血管平滑筋の小胞体カウンターイオンチャネルを介した血圧調節機構、第 57 回日本平滑筋学会総会、2015 年 8 月 25 日～27 日、山口大学医学部

⑤山崎大樹、張願書、駒崎伸二、竹内綾子、王朝弘、趙成珠、Ki Ho Park、西美幸、松岡達、Jianjie Ma、竹島浩、TRIC-A 欠損によるインプロテレノール誘発性心臓線維化、研究会 2015 心臓・血管系の包括的な機能統合研究、2015 年 10 月 29 日～30 日、生理学研究所

⑥Lin P, Cai C, Zhu H, Ko JK, Hwang M, Pan Z, Tan T, Yamazaki D, Takeshima H, Korichneva I, Ma J. Zinc Binding to MG53 Facilitates Repair of Injury to Cell Membrane. 60th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)、2016 年 2 月 26 日～3 月 2 日、米国・ロサンゼルス

⑦Zhao C, Qian N, Ichimura A, Yamazaki D, Asagiri M, Yamamoto K, Komazaki S, Nishi M,

Takeshima H. Compromised Collagen Production in Tric-b-knockout Osteoblast. 60th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)、2016 年 2 月 26 日～3 月 2 日、米国・ロサンゼルス

⑧山崎大樹、安藤博之、吉永貴史、山本渉、朝倉圭一、谷口智彦、宇田宗晃、諫田泰成、長田智治、林誠治、宮本憲優、葛西智恵子、田洪弘行、犬塚隆志、杉山篤、澤田光平、関野祐子、Assessment of TdP risk using human iPS-derived cardiomyocytes by JiCSA 60 compounds、第 89 回日本薬理学会年会、2016 年 3 月 9 日～11 日、パシフィコ横浜

⑨井出吉紀、小林真理子、山崎大樹、諫田泰成、関野祐子、Risk assessment of proarrhythmia using human iPSC-derived cardiomyocytes by voltage sensitive dye imaging、第 89 回日本薬理学会年会、2016 年 3 月 9 日～11 日、パシフィコ横浜

⑩山崎大樹、竹内綾子、趙成珠、西美幸、松岡達、竹島浩、TRIC-A 欠損マウスにおける β アドレナリン受容体刺激による心臓線維化機構、第 93 回日本生理学会大会、2016 年 3 月 22 日～24 日、札幌・コンベンションセンター

⑪井出吉紀、市川道教、小林真理子、坪倉健司、山崎大樹、諫田泰成、関野祐子、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価のための無染色イメージング技術の開発、第 93 回日本生理学会大会、2016 年 3 月 22 日～24 日、札幌・コンベンションセンター

[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]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

山崎 大樹 (YAMAZAKI, Daiju)

国立医薬品食品衛生研究所・薬理部・主任研究官

研究者番号:40467428

(2)研究分担者

駒崎 伸二 (KOMAZAKI, Shinji)

埼玉医科大学・解剖学・准教授

研究者番号:80129155