

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670400

研究課題名(和文)血管CNP-GC-Bシステムの血管機能制御と血管病態における意義の解明

研究課題名(英文)Elucidation of significance of vascular CNP-GC-B system in vascular integrity and pathology

研究代表者

桑原 宏一郎 (Kawahara, Koichiro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：30402887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：血管機能制御における血管CNP-GC-Bシステムの意義を明らかとすることを目的として本研究をおこなった。まず、血管内皮特異的CNPノックアウトマウス(CNPeckO)を作製し解析したところ、CNPeckOでは有意に对照群より血圧が上昇していた。CNPeckOでは、血管内皮由来血管弛緩反応が低下し、血管内皮でのエンドセリン-1発現亢進を認めた。一方で、血管平滑筋特異的GC-Bノックアウトマウス(GC-B smckO)では血圧が正常であり、血管内皮依存性血管弛緩反応も正常に保たれていた。生理的条件下での血圧制御には血管内皮由来CNPが血管平滑筋のGC-Bを介さずに働く可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we studied the role of vascular CNP-GC-B system in vascular homeostasis. We generated vascular endothelial cell-specific CNP knockout (CNP eckO) mice and measured blood pressures in these CNP eckO mice. CNP eckO mice showed significantly higher blood pressure than control mice. In CNP eckO, endothelium-dependent vasorelaxation was impaired and endothelial expression of vasoconstrictive endothelin-1 was increased. By contrast, vascular smooth muscle cell-specific GC-B knockout (GC-B smckO) mice exhibited blood pressures similar to control mice, and acetylcholine-induced vasorelaxation was preserved. These results demonstrate that endothelium-derived CNP contributes to the chronic regulation of vascular tone and systemic blood pressure by maintaining endothelial function independently of vascular smooth muscle GC-B.

研究分野：分子循環器学

キーワード：ナトリウム利尿ペプチド 血管内皮 血圧

1. 研究開始当初の背景

社会の高齢化に伴い心血管病はその罹病率も増加し、その予防、対処法の更なる改善が望まれている。動脈硬化性病変などに代表される血管病態においては、複数の細胞種の間での血管壁における液性因子を介した相互作用が血管リモデリングや血管新生などのプロセスにおいて重要な役割を果たす。

C-type ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は寒川らにより発見されたナトリウム利尿ペプチドファミリーに属するペプチドホルモンであり、Guanylyl cyclase-B (GC-B)をその特異的かつ機能的な受容体とする。申請者の所属するグループは、CNPが血管内皮から分泌され、血管平滑筋などに存在するGC-Bを介して血管拡張、血管リモデリングや血管新生に関わるとする、「血管CNP-GC-Bシステム」の存在を提唱してきた。しかし全身におけるCNPノックアウトマウスおよびGC-Bノックアウトマウスは著しい短躯を示し、生後早期に死亡した。これらのことから、CNP-GC-Bシステムの血管制御における意義を明らかにすることは今まで困難であった。

2. 研究の目的

申請者は、CNP-GC-Bシステムを組織特異的にノックアウトする目的で、それぞれの遺伝子のfloxマウスの作製に成功した。本研究では、これらマウスを用いて血管内皮特異的CNPノックアウトマウス、血管内皮特異的GC-Bノックアウトマウス、血管平滑筋特異的GC-Bノックアウトマウスをそれぞれ作成し、血管機能制御における血管CNP-GC-Bシステムの生理的あるいは病態生理的意義を明らかとすることを目的とする

3. 研究の方法

(1) 血管内皮特異的 CNP ノックアウトマウスの作製とその血圧制御における役割の解析

最近申請者は組織特異的 CNP ノックアウトマウスを作製する目的で CNP flox マウスの作製に成功し、さらにこのマウスを Tie2-cre マウスと交配することにより、血管内皮特異的に CNP をノックアウトしたマウス(CNP ecKO)の作製に成功した。本マウスはその体長に関して特にコントロールマウスと比較して差がなく、また早期の死亡も認めない。本申請研究ではまず CNP ecKO を用いて、血管機能制御における血管内皮由来 CNP の役割を明らかにしていく。具体的には、埋め込み型無線血圧測定器による、非麻酔下、自由行動下での血圧連続測定、L-NAME 投与による昇圧反応測定、抵抗血管である摘出腸間膜動脈における内皮依存性血管弛緩反応測定などを行い、血管収縮、弛緩反応における差異を検討する。

(2) 血管平滑筋特異的 GC-B ノックアウトマウスの作製とその血圧制御における役割の解析

血管内皮由来 CNP はパラクライン因子とし

て血管平滑筋細胞にその受容体 GC-B を介して働き、血管トーン制御に働く可能性が考えられている。そこで組織特異的 GC-B ノックアウトを作製可能な GC-B flox マウスを作製し、本マウスを sm22-cre マウスと交配して血管平滑筋特異的 GC-B ノックアウトマウス(GC-B smcKO)を作製し、上述の CNP ecKO と同様にその血圧制御における役割を解析する。

(3) 血管内皮特異的 GC-B ノックアウトマウスの作製とその血圧制御における役割の解析

血管内皮由来 CNP がオートクラインに働いて血管内皮細胞機能維持を介して血圧制御に関与している可能性が考えられるため、GC-B flox マウスと Tie2-cre マウスを交配し、血管内皮特異的 GC-B ノックアウトマウス(GC-B ecKO)を作製し、上記 CNP ecKO 同様の解析を行う。本解析は血管内皮機能制御によるCNP-GC-Bオートクライン経路の血管トーン制御という新しい分子機序の解明につながりうる可能性がある。

4. 研究成果

(1) 血管内皮特異的 CNP ノックアウトマウスの作製とその血圧制御における役割の解析

CNP flox マウスと Tie2-cre マウスを交配し、血管内皮特異的 CNP ノックアウトマウス(CNP ecKO)を作製し、その血圧を埋め込み型無線血圧測定器により、非麻酔下、自由行動下で連続測定した。その結果、CNPecKOでは有意に対照群より血圧が上昇していた(図1)。その分子機序として、血管内皮由来血管弛緩反応を検討したところ、CNPecKOの抵抗血管においては血管内皮由来血管弛緩反応有意に低下していた。さらに NOS および COX 阻害薬存在下で、対照マウス由来の血管と比較したところ、CNPecKO 由来血管の血管内皮由来血管弛緩反応性低下はより増強していた。このことは CNPecKO では NOS、COX 非依存性の内皮由来血管弛緩反応が特に低下していることを示唆し、血管内皮由来過分極因子(EDHF)の低下が示唆された(図2)。

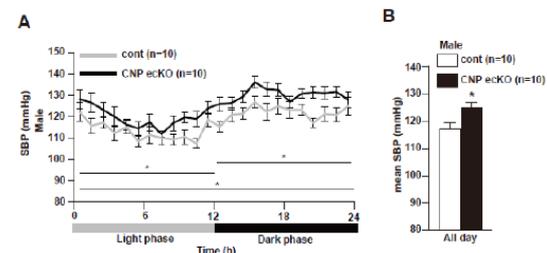


図1. A,B: CNPecKOにおける血圧の上昇

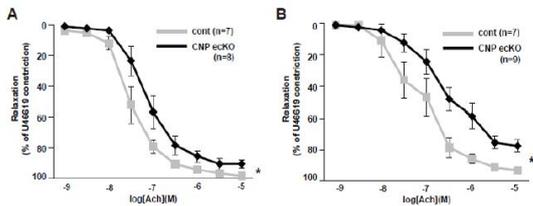


図2、A,B: CNPecKO由来抵抗血管における血管内皮由来弛緩反応の低下。B:L-NAME, indomethacin存在下。

これらのことは血管内皮由来 CNP が血管内皮の機能維持に重要な役割を果たしていることを示唆している。そこでさらに CNPecKO 血管内皮に発現する種々の血圧制御因子の遺伝子発現を対照マウスのそれと比較解析したところ、血管内皮でのエンドセリン-1 (ET-1) およびアンジオテンシン変換酵素 (ACE) の有意な発現亢進を CNPecKO 由来血管内皮において認めた (図 3)。CNPecKO の血中 ET-1 および angiotensinII 濃度を測定したところ、とくに ET-1 の優位な上昇を CNP ecKO で認めた。そこで ET-1 受容体阻害薬を CNP ecKO に投与したところ、CNP ecKO では対照マウスに比し、有意に大きな降圧効果を認め、血管内皮での ET-1 発現亢進が少なくとも一部 CNP ecKO の血圧上昇に関与することを明らかにした。これらの結果から、血管内皮由来 CNP は、血管内皮において血管弛緩因子の増強と血管収縮因子の抑制を介して血管内皮機能維持に働くことが示された。

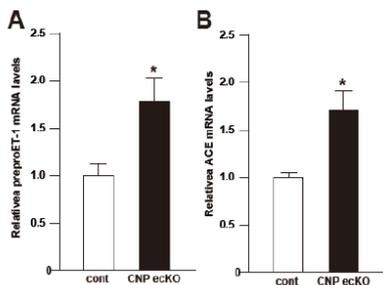


図3、A,B: CNPecKO血管内皮におけるprepro-ET-1 (A)およびACE(B)の発現上昇

(2) 血管平滑筋特異的 GC-B ノックアウトマウスの作製とその血圧制御における役割の解析

血管内皮由来 CNP はパラクライン因子として血管平滑筋細胞にその受容体 GC-B を介して働き、血管トーン制御に働く可能性が考えられている。そこで血管平滑筋特異的 GC-B ノックアウトマウスの作製とその血圧制御における役割の解析を行った。血管平滑筋細胞特異的に CNP の受容体である GC-B をノックアウトした血管平滑筋特異的 GC-B ノックアウトマウス(GC-B smcKO)を GC-B flox マウスと sm22-cre マウスとの交配にて作製し、血圧を連続測定したが、予想に反して GC-B smcKO は血圧が正常である結果を得た (図 4)。血管平滑筋での GC-B 発現は 90%以

上低下しており、また CNP に対する血管弛緩反応はほぼ認められなくなっていることから、生理的条件下での血圧制御には血管内皮由来 CNP が血管平滑筋の GC-B を介さずに働く可能性が示された。

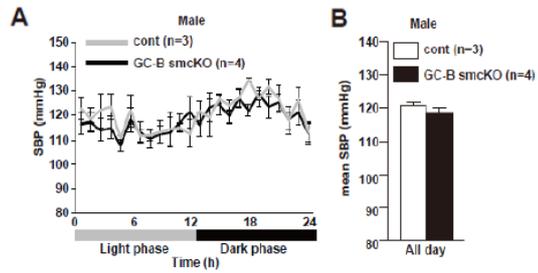


図4、A,B: GC-BsmcKOにおける血圧

(3) 血管内皮特異的 GC-B ノックアウトマウスの作製とその血圧制御における役割の解析

上記の結果から血管内皮由来 CNP は、少なくとも血圧制御においては血管内皮にオートクラインとして働いて血管内皮機能維持に働く可能性が示唆された。そこで血管内皮における GC-B の意義を検証するために、さらに GC-B flox マウスと Tie2-cre マウスを交配し血管内皮特異的 GC-B ノックアウトマウス (GC-B ecKO) の作成を開始した。今後本マウスの血圧、血管機能の解析を行っていく予定である。

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 10 件)

- Yamashita Y, Yamada-Goto N, Katsuura G, Ochi Y, Kanai Y, Miyazaki Y, Kuwahara K, Kanamoto N, Miura M, Yasoda A, Ohinata K, Inagaki N, Nakao K. Brain-specific natriuretic peptide receptor-B deletion attenuates high-fat diet-induced visceral and hepatic lipid deposition in mice. **Peptides**. 2016 [Epub ahead of print] doi: 10.1016/j.peptides.2016.03.014. 査読有
- Yamada C, Kuwahara K, Yamazaki M, Nakagawa Y, Nishikimi T, Kinoshita H, Kuwabara Y, Minami T, Yamada Y, Junko Shibata J, Nakao K, Cho K, Arai Y, Honjo H, Kamiya K, Nakao K and Kimura T. The renin-angiotensin system promotes arrhythmogenic substrates and lethal arrhythmias in mice with non-ischemic cardiomyopathy. **Cardiovasc Res** 109(1):162-73. 2016. doi: 10.1093/cvr/cvv248. 査読有
- Nakagawa Y, Yasuno S, Kuwahara K. Differential relationships between anemia and outcomes among subgroups of patients with chronic heart failure. **Circ J** 79(9):1893-1894. 2015. doi:

10.1253/circj.CJ-15-0852. 査読有
Nishikimi T, Nakagawa Y, Minamino N, Ikeda M, Tabei K, Fujishima A, Takayama K, Akimoto K, Yamada C, Nakao K, Minami T, Kuwabara Y, Kinoshita H, Tsutamoto T, Ishimitsu T, Kangawa K, Kuwahara K, Nakao K. Pro-B-type natriuretic peptide is cleaved intracellularly: impact of distance between O-glycosylation and cleavage sites. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 309(6):R639-49. 2015. doi:10.1152/ajpregu.00074.2015. 査読有
Nakao K, Osawa K, Yasoda A, Yamanaka S, Fujii T, Kondo E, Koyama N, Kanamoto N, Miura M, Kuwahara K, Akiyama H, Bessho K, Nakao K. The Local CNP/GC-B system in growth plate is responsible for physiological endochondral bone growth. **Sci Rep.** 5:10554.2015. doi: 10.1038/srep10554. 査読有
Kuwahara K, Kimura T. The organ-protective effect of N-type Ca²⁺ channel blockade. **Pharmacol Ther.** 151:1-7.2015. 査読有
doi:10.1016/j.pharmthera.2015.02.001
Tanaka M, Yamaguchi S, Yamazaki Y, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakao K, Jay PY, Noda T, Nakamura T. Somatic chromosomal translocation between *Ewsr1* and *Fli1* loci leads to dilated cardiomyopathy in a mouse model. **Sci Rep** 5:7826. 2015. doi: 10.1038/srep07826. 査読有
Oshita K, Itoh M, Hirashima S, Kuwabara Y, Ishihara K, Kuwahara K, Nakao K, Kimura T, Nakamura K, Ushijima K, Takano M. Ectopic automaticity induced in ventricular myocytes by transgenic overexpression of HCN2. **J Mol Cell Cardiol.** 80:81-89. 2015. doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.12.019. 査読有
Yamada Y, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakagawa Y, Kuwabara Y, Minami T, Yamada C, Shibata J, Nakao K, Cho K, Arai Y, Yasuno S, Nishikimi T, Ueshima K, Kamakura S, Nishida M, Kiyonaka S, Mori Y, Kimura T, Kangawa K, Nakao K. Inhibition of N-type Ca²⁺ channels ameliorates an imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents lethal arrhythmias in mice with heart failure. **Cardiovasc Res** 104(1):183-93.2014. doi: 10.1093/cvr/cvu185. 査読有
Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K, Yasuno S, Kinoshita H, Kuwabara Y, Nakao K, Minami T, Yamada C, Ueshima K, Ikeda Y, Okamoto H, Horii K, Nagata

K, Kangawa K, Minamino N, Nakao K. The Effects of Super-Flux (High Performance) Dialyzer on Plasma Glycosylated Pro-B-Type Natriuretic Peptide (proBNP) and Glycosylated N-Terminal proBNP in End-Stage Renal Disease Patients on Dialysis. **PLoS One.** 9(3):e92314. 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0092314. eCollection 2014. 査読有

〔学会発表〕(計 30 件)

1. 第 51 回 日本臨床分子医学会 2014.4.11-12. 東京
中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、木下秀之、栗原佳宏、山田千夏、中尾一泰、保野慎治、上嶋健治、木村剛、南野直人、中尾一和
脳性(B型)ナトリウム利尿ペプチド前駆体 proBNP プロセッシングにおける糖鎖結合の役割
2. 第 78 回日本循環器学会学術集会 2014.3.21-23.東京
Kinoshita H, Kuwahara K
TRPC3/6 as Potentially Novel Therapeutic Targets for the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension
3. 第 78 回日本循環器学会学術集会 2014.3.21-23.東京
Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K, Yasuno S, Kinoshita H, Kuwabara Y, Nakao K, Yamada C, Ueshima K, Minamino N, Kimura T, Nakao K
Elucidation of molecular mechanism of human proBNP: role of O-glycosylation in N-terminal region of proBNP
4. 第 78 回日本循環器学会学術集会 2014.3.21-23.東京
Nishikimi T, Nakagawa Y, Minamino N, Ikeda M, Ishimitsu T, Yamada C, Nakao K, Minami T, Kuwabara Y, Kinoshita H, Kangawa K, Kuwahara K, Nakao K
Molecular mechanism of lower processing rate in human proBNP: importance of the distance between the O-glycosylation and cleavage sites
5. 第 87 回日本内分泌学会学術総会 2014 年 4 月 24-26 日 福岡
中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、栗原佳宏、中尾一泰、山田千夏、上嶋健治、南野直人、木村剛、中尾一和血液透析患者における BNP 前駆体 proBNP についての検討
6. 第 31 回日本心電学会学術集会, 2014.7.22-25、東京
Yoshihiro Kuwabara, Koichiro Kuwahara, Makoto Takano, Hideyuki Kinoshita, Yuji Arai, Yasuaki Nakagawa, Shinji Yasuno, Sachiyo Igata, Satoru Usami, Takeya

- Minami, Yuko Yamada, Kazuhiro Nakao, Chinatsu Yamada, Junko Shibata, Toshio Nishikimi, Kenji Ueshima, Kazuwa Nakao
Increased Expression of HCN channels in the Ventricular Myocardium Contributes to Enhanced Arrhythmicity in Mouse Failing Hearts
7. The Conference on Bioactive Peptides for Cell-Cell Communication 2014/9 京都
Chinatsu Yamada, Koichiro Kuwahara
Renin-angiotensin system promotes arrhythmogenic remodeling in mice with heart failure and sudden arrhythmic death
 8. 第 18 回日本心不全学会学術集会 2014.10.10-12. 大阪
Chinatsu Yamada, Koichiro Kuwahara, Hideyuki Kinoshita, Yasuaki Nakagawa, Toshio Nishikimi, Kazuwa Nakao, Takeshi Kimura
Pivotal involvement of renin-angiotensin system in promoting arrhythmogenic remodeling in mice with chronic heart failure and lethal arrhythmias
 9. 第 18 回日本心不全学会学術集会 2014.10.10-12. 大阪
Yasuaki Nakagawa, Toshio Nishikimi, Koichiro Kuwahara, Shinji Yasuno, Hideyuki Kinoshita, Yoshihiro Kuwabara, Kazuhiro Nakao, Chinatsu Yamada, Kenji Ueshima, Naoto Minamino, Takeshi Kimura, Kazuwa Nakao
Role of *O*-glycosylation in N-terminal region of human proBNP in proBNP processing
 10. 第 37 回 日本高血圧学会総会 2014.10.17-19. 横浜、神奈川
桑原宏一郎、山田優子、木下秀之、中川靖章、柴田純子、山田千夏、森泰生、中尾一和、木村剛
拡張型心筋症モデルマウスにおける N 型 Ca²⁺チャネル阻害は自律神経バランスを改善し突然死を予防す
 11. 第 18 回日本心血管内分泌代謝学会総会 2014.11.21-22. 横浜
桑原宏一郎
心血管系におけるナトリウム利尿ペプチドの産生制御と作用機序の新知見
 12. 第 18 回日本心血管内分泌代謝学会総会 2014.11.21-22. 横浜
中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、山田千夏、上嶋健治、南野直人、中尾一和、木村剛
ヒト proBNP プロセッシングにおける O 型糖鎖修飾の意義についての検討
 13. 第 31 回 国際心臓研究会 (ISHR) 日本部会 2014 年 11.28-2, 名古屋
Yasuaki Nakagawa, Toshio Nishikimi, Koichiro Kuwahara, Shinji Yasuno, Hideyuki Kinoshita, Yoshihiro Kuwabara, Chinatsu Yamada, Kenji Ueshima, Naoto Minamino, Takeshi Kimura
O-glycosylation in N-terminal region of proBNP regulates its processing in ventricular myocytes
 14. American heart Association (AHA) Scientific Sessions 2014, Chicago, 2014
Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K, Yasuno S, Kinoshita H, Kuwabara Y, Nakao K, Yamada C, Ueshima K, Minamino N, Kimura T, Nakao K
Role of *O*-glycosylation in N-terminal region of human proBNP in its processing mechanisms
 15. The Conference on Bioactive Peptides for Cell-Cell Communication, Kyoto, 2014
Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K, Yasuno S, Kinoshita H, Kuwabara Y, Nakao K, Yamada C, Ueshima K, Minamino N, Kimura T, Nakao K:
Significance of *O*-glycosylation in proBNP processing
 16. European Society of Cardiology (ESC) congress 2014, Barcelona, 2014
Yamada C, Kuwahara K, Kuwabara Y, Kinoshita H, Nakagawa Y, Nishikimi T, Nakao K, Kimura T:
Critical involvement of renin-angiotensin system for developing arrhythmogenic remodeling in mice with chronic heart failure and lethal arrhythmias
 17. The 18th International Vascular Biology Meeting (IVBM 2014), Kyoto, 2014
Nakao K, Kuwahara K, Nishikimi T, Nakagawa Y, Kinoshita H, Tokudome T, Sone M, Kimura T, Kangawa K, Nakao K
C-type Natriuretic Peptide Derived from Vascular Endothelial Cells Contributes to the Regulation of Blood Pressure
 18. The 18th International Vascular Biology Meeting (IVBM 2014), Kyoto, 2014
Minami T, Kuwahara K, Kuwabara Y, Cho K, Kinoshita H, Nakagawa Y, Ueda K, Kimura T
Reciprocal expression of MRTF-A and myocardin is crucial for pathological vascular remodeling in mice
 19. Gordon Conference: Angiotensin The Renin-Angiotensin System Beyond Angiotensin II, Barga, 2014
Kuwahara K, Yamada C, Kuwabara Y, Kinoshita H, Nakagawa Y, Nishikimi T, Nakao K, Kimura T
Pivotal contribution of renin-angiotensin system to promoting arrhythmogenic remodeling in mice model of chronic heart failure with lethal arrhythmias
 20. 第 44 回 日本心脈管作動物質学会 2015.2.6-7. 高松
桑原宏一郎、中尾一和、木村剛

- 心不全に伴う不整脈突然死発症にかかわる分子メカニズム
21. The 88th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society 2015.3.17-20. Nagoya
Koichiro Kuwahara
TRPC6 in pathological cardiac remodeling
 22. 第 52 回 日本臨床分子医学会 2015.4.10-11. 京都
桑原宏一郎
心機能の破綻と維持における転写調節経路の解明～心不全新規治療法の探索～
 23. 第 79 回 日本循環器学会学術集会 2015.4.24-26 大阪
Koichiro Kuwahara
Ion channel remodeling in the progression of heart failure
 24. 第 32 回 日本心電学会学術集会、2015/7/28-31、京都
山田(井上)優子、桑原宏一郎
Inhibition of N-type Ca²⁺ channels ameliorates an imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents lethal arrhythmias in mice with heart failure
 25. 第 58 回 日本神経化学会大会 2015.9.11-12. 大宮、埼玉
Koichiro Kuwahara, Takeshi Kimura
NRSF plays an essential role in the regulation of cardiac gene expression and function
 26. 第 19 回 日本心不全学会 2015.10.22-24. 大阪
桑原宏一郎
心不全進展にかかわる心筋遺伝子転写調節分子経路の解明
 27. 第 19 回 日本心血管内分泌代謝学会学術集会 2015.12.10-12. 神戸
中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、木下秀之、山田千夏、南野直人、中尾一和、木村剛
心不全患者における proBNP の分泌と代謝についての検討
 28. 第 19 回 日本心血管内分泌代謝学会学術集会 2015.12.10-12. 神戸
中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、木下秀之、山田千夏、南野直人、中尾一和、木村剛
O 型糖鎖修飾を介したヒト BNP プロセシング調節に關与する糖転移酵素についての検討
 29. 第 32 回 国際心臓学会日本部会 (ISHR 2015) 2015.12.10-12. 神戸
桑原宏一郎、中川靖章、錦見俊雄、中尾一和、木村剛
MiR30-GALNT axis-mediated regulation of glycosylation participates in the secretion of proBNP in failing hearts_
 30. 25th European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection (European

Society of Hypertension 2015) , Milan, 2015

Kuwahara K, Yamada Y, Kinoshita H, Nakagawa Y, Nakao K, Kimura T
N-type Ca²⁺ channels blockade restores the cardiac autonomic balance and prevents lethal arrhythmias in mice with dilated cardiomyopathy

〔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
京都大学循環器内科心血管内分泌代謝グループ ホームページ
<http://kyoto-u-cardio.jp/kisokenkyu/cat236/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

桑原 宏一郎 (KUWAHARA, Koichiro)
京都大学大学院医学研究科・講師
研究者番号：30402887