

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 2月17日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591054

研究課題名（和文）長期腹膜透析の可能性に向けた、補体学的アプローチ

研究課題名（英文）Complement-associated analysis for improvement of prognosis in patients on long-term peritoneal dialysis

研究代表者

水野 正司 (MIZUNO MASASHI)

名古屋大学・大学院医学系研究科・寄附講座講師

研究者番号：20303638

研究成果の概要（和文）：

正常腹膜で、ラットに膜補体制御因子(CRegs)機能抑制によりその重要性を示し、腹膜透析(PD)液が正常腹膜において、PD液の低 pH と高浸透圧により易補体活状態になることを証明した。また、致死率の高い被嚢性腹膜硬化症 (EPS) 発症に至る過程に、腹膜炎の状況で、補体制御異常が像悪因子となるかどうかを、ラット真菌障害モデルの CRegs 機能抑制により、腹膜に与える影響を調べた。結果、腹膜傷害の増悪、および EPS 初期の一反応と考えられる腹膜表層にフィブリン層の形成を観察し、補体異常活性化が増悪因子となる可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：

We showed that membrane complement (C) regulators (CRegs) played key roles in normal rat peritoneum and that low pH and high osmotic pressure as elements of peritoneal dialysis (PD) fluid increased peritoneal injuries under functional blocking of CRegs. We also showed that CRegs' impairments might accelerate peritoneal injuries to encapsulating peritoneal sclerosis in the zymosan induced peritonitis model in rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：人工透析学、腹膜透析、慢性腹膜炎、腹膜硬化症、補体、抗補体治療

1. 研究開始当初の背景

腹膜透析(PD)の長期継続を妨げる理由の一つに被嚢性腹膜硬化症が(EPS)ある。その発症機序については、血管新生、リンパ管新生、線維化等の因子について研究されているが未だに不明な点が多い。また、EPS発症のために、背景として腹膜炎やPD液暴露など

で腹膜を刺激する1stヒットに、さらにこれに何らかの誘導因子が加わりEPSに至るといふ2ヒット理論が唱えられている。しかし、その詳細は未だに不明である。

補体活性系は、炎症の関与する様々な病態に関わっている。しかし、補体活性化の制御系について種々の臓器で検討されているが、

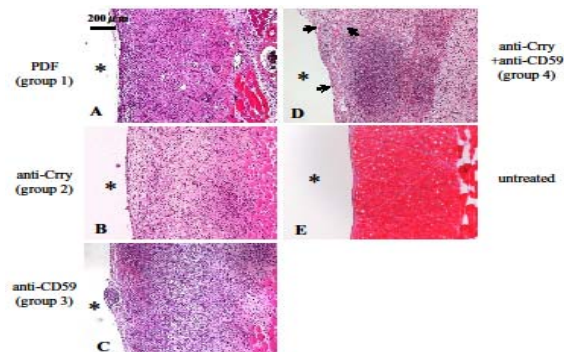
腹膜についての報告は無い。このため、正常腹膜における膜補体制御因子の役割を検討することは意義あることと考える。また、我々は、以前、ラットに真菌成分である Zymosan を用いた高度の腹膜炎の誘導に成功した。また、同時にこの腹膜炎発症に、補体活性化が関与していることを示した。この結果は、補体活性化が EPS の背景となる 1st ヒットとなり得ることを示唆した。しかし、補体活性系の制御異常が加わることで、何が 2nd ヒットとしての腹膜の変化が生じさせるかの検証はされていない。さらに、腹膜透析液が、補体活性化制御について腹膜表面を覆う中皮細胞に与える影響について十分な検討が行われてこなかった。

本研究では、実験動物を用いて、正常腹膜で CRegs は如何に機能しているか、補体制御異常が 2nd ヒットとなり得るか、PD 患者の受ける影響のうち、PD 液の重要な構成要素である pH と浸透圧が腹膜表層を覆う CRegs にどのように影響するのか、を明らかにする。さらに、PD 患者の残腎保持に有利だと言われている点について、補体学的に調べる。

2. 研究の目的

- 1) 正常腹膜における CRegs の機能的役割をラットで検討し、PD 液の構成成分のうち、pH と浸透圧により、ラット腹膜中皮の primary culture が CRegs 発現の障害を受けるかどうかを調べる。
- 2) 真菌性腹膜炎モデルを用いて、1st hit として腹膜傷害が生じている状況下で、さらに補体制御に異常が生じると、2nd hit として EPS 発症に関与する可能性の有無について調べる。
- 3) PD 患者の排液から中皮細胞の primary culture を行い、PD 液が与える影響について、補体・膜補体制御因子の面から調べる。
- 4) PD 患者において、PD 施行が残腎機能保護に関与する可能性について、PD 導入前と導入後の尿中補体活性化物質を測定して検討する。

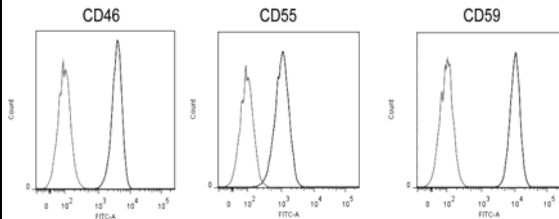
3. 研究の方法



1) 正常ラットの腹腔内に CRegs(Crry, CD55, CD59)の中和抗体(mAb 5I2, mAb

RDIII-7, mAb 6D1)を、コントロールバッファ (PBS)または各種 PD 液(ダイアニール®N1.5%, 1.5%, 4.25%)と共に投与し腹膜の病理変化を調べて、*in vivo* での影響を検討した。さらに、*in vitro* 実験のため、ラット腹膜より primary culture を得る。このラット中皮細胞の primary culture を、低 pH と高浸透圧下で培養して CRegs の発現と補体活性化への影響を調べた。2) 腹膜擦過後に Zymosan 5mg を 5 日間投与して生じる高度のラット腹膜炎モデル (1st hit) に、day 4 で CRegs の中和抗体(RDIII-7,

図3 ヒト中皮細胞(primary cultures)における膜補体制御因子(CD46, CD55, CD59)の発現



6D1)を腹腔内に投与 24 時間後に、補体異常活性化が 2nd hit として腹膜に病理学的変化を起こすかを調べた。さらにこのモデルに cobra venom factor を急速静脈注射することにより急激に補体を活性化させた時に炎症が増悪するかどうかについても検証した。

3) PD 排液より、ヒト中皮細胞 primary culture を確立し、個々の PD 患者における CRegs である CD46, CD55, CD59 のヒト中皮細胞上の発現について FACS を用いて調べた。

4) 残腎機能と比較するため、PD 導入前後で、尿中の pH や蛋白などと、尿中 sC5b-9 について ELISA で測定し、その蛋白補正を行ったデータで、残腎機能の臨床的推移と比較検討した。

4. 研究成果

1) 正常腹膜における CRegs の役割を調べるため、ラット腹腔内に CRegs 機能の中和抗体抗 Crry、抗 CD55、または抗 CD59 を単独、もしくは 2つを組み合わせる腹膜内投与したところ、Crry と CD59 の組み合わせの機能抑制により急性腹膜炎が誘導された (図 1)。これより、腹膜における CRegs の存在が、他臓器同様に重要であること、さらに酸性 PD 液および高浸透圧 PD 液下で、この腹膜傷害の増悪を認めた。これより、CRegs は補体系の異常活性化を調節するために重要な役割を果たすこと、および酸性と高浸透圧 PD 液が補体依存性腹膜傷害を増悪させることを示した。

2) Zymosan 誘導のラット真菌性腹膜炎モデルに CRegs(Crry, CD59)中和抗体を投与すると、腹膜への補体成分の沈着、炎症細胞の浸潤と腹膜の肥厚が進む。また、腹膜表層に EPS の初期像の様にフィブリン層が形成される

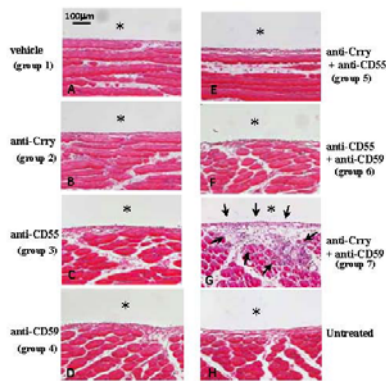
ことを確認した (図 2D)。

3) PD 患者の PD 排液より、中皮細胞の primary culture を安定して得る系を確立した。また、ラットの中皮細胞と同様に、ヒト中皮細胞上にも CRegs(CD46, CD55, CD59)が多く発現していることを FACS で確認した(図 3)。今後、個々の PD 患者において、CRegs の発現の変化を調べていく予定である。

4) 限定した PD 患者数 (n=5) であるが、PD 導入後、尿中 pH の上昇を確認した。このとき、尿中の補体活性化産物 (sC5b-9) 濃度が減少した。今後、期間と n を増やし、追試験を行い、さらに詳細を評価検討していく予定である。

図1 ラット正常腹膜における膜補体制御因子の役割

ラットの腹膜に発現している膜補体制御因子Crry, CD55, CD59のうち、CrryとCD59の2つの組み合わせで機能抑制した場合(G; →部)に、腹膜傷害を来たした。
*は腹腔側。



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 25 件)

1) Mizuno M, Ito Y, Mizuno T, Suzuki Y, Harris CL, Okada N, Matsuo S, Morgan BP: Membrane complement regulators protect against

図2 ラットZymosan腹膜炎モデルにおける膜補体制御

ラットの腹膜に発現している膜補体制御因子Crry, CD55, CD59のうち、CrryとCD59の2つの組み合わせで機能抑制した場合に、腹膜傷害が増悪し、腹膜表層にfibrin層の形成を確認した(D; →部)。*は腹腔側。

fibrin-exudation, an early stage of encapsulating peritoneal sclerosis (EPS), in a chronic proliferative peritoneal inflammation model in the rat. Am J Physiol Renal Physiol. 2012, in press. 査読有

2) Suzuki Y, Ito Y, Mizuno M, Kinashi H, Sawai A, Noda Y, Mizuno T, Shimizu H, Fujita Y, Matsui K, Maruyama S, Imai E, Matsuo S, Takei Y: Transforming growth factor- β induces vascular endothelial growth factor-C expression leading to lymphangiogenesis in rat unilateral ureteral obstruction. Kidney Int. 2012, in press. 査読有

3) Katsuno T, Osaki T, Saka Y, Furuhashi K, Kim H, Yasuda K, Yamamoto T, Sato W, Tsuboi N, Mizuno M, Ito Y, Imai E, Matsuo S, Maruyama S.: Low serum cultured adipose tissue-derived stromal cells ameliorate acute kidney injury in rats. Cell Transplant. 2012, in press. 査読有

4) Toda S, Ito Y, Mizuno M, Suzuki Y, Ito I, Hiramatsu H, Ozaki T, Tsuboi N, Sato W, Maruyama S, Imai E, Matsuo S.: Asymptomatic diverticulosis identified by computed tomography is not a risk factor for enteric peritonitis. Nephrol Dial Transplant. 2012, in press. 査読有

5) Kato H, Mizuno T, Mizuno M, Sawai A, Suzuki Y, Kinashi H, Nagura F, Maruyama S, Noda Y, Yamada K, Matsuo S, Ito Y: Atrial natriuretic peptide ameliorates peritoneal fibrosis in a rat peritonitis model. Nephrol. Dial. Transplant. 27:526-536, 2012. 査読有

6) Mizuno M, Ito Y, Tanaka A, Suzuki Y, Hiramatsu H, Watanabe M, Tsuruta Y, Matsuoka T, Ito I, Tamai H, Kasuga H, Shimizu H, Kurata H, Inaguma D, Hiramatsu T, Horie M, Naruse T, Maruyama S, Imai E, Yuzawa Y, Matsuo S: Peritonitis is still an important factor for withdrawal from peritoneal dialysis therapy in the Tokai area of Japan. Clin Exp Nephrol. 15:727-737, 2011. 査読有

7) Saka Y, Tachi H, Sakurai H, Tawada M, Sawai A, Shimamura Y, Mizuno M, Maruyama S, Matsuo S, Ito Y: Aliskiren-induced chyloperitoneum in a patient on peritoneal dialysis. Perit Dial Int 32: 111-113, 2012. 査読有

8) Suzuki Y, Mizuno M, Nakashima R, Hiramatsu H, Toda S, Sato W, Tsuboi N, Ito I, Maruyama S, Imai E, Matsuo S, Ito Y: A case of perforative peritonitis by a piece of bamboo in a patient on peritoneal dialysis. Clin Exp Nephrol 15:962-965, 2011. 査読有

9) Mizuno M, Ito Y, Masuda T, Toda S, Hiramatsu H, Suzuki Y, Ozaki T, Yasuda Y, Ito I, Tsuboi N, Sato W, Maruyama S, Imai E, Matsuo S: A case of fulminant peritonitis caused by *Streptococcus mitis* in a patient on peritoneal dialysis. Intern Med. 50: 471-474, 2011. 査読有

10) Mizuno T, Ito K, Miyagawa Y, Kimura K, Suzuki K, Mizuno M, Ito Y, Funabashi Y, Hattori R, Gotoh M, Noda Y, Yamada K: Renal impairment after laparoscopic radical nephrectomy affects hypoglycemic therapy. J. Clin Pharm Therapy 37: 49-52, 2012. 査読有

11) Mizuno M, Ito Y, Hayasaki T, Suzuki Y, Hiramatsu H, Toda S, Tatematsu M, Ozaki T, Sato W, Tsuboi N, Ito I, Marumaya S, Imai E, Matsuo S: A case of acute renal failure caused by cholesterol embolization after carotid artery stenting that was improved by peritoneal dialysis.

Intern Med 50:1719-1723, 2011. 査読有

12) Mizuno M, Morgan BP: An update on the roles of the complement system in autoimmune diseases and the therapeutic possibilities of anti-complement agents. *Current Drug Therapy* 6: 35-50, 2011. 査読有

13) Mizuno T, Mizuno M, Okada N, Morgan BP, Noda Y, Yamada K, Okada N, Yuzawa Y, Matsuo S, Ito Y: Specific collaboration between rat membrane complement regulators Crry and CD59 protects peritoneum from damage by autologous complement activation in peritoneal dialysate fluid. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26: 1821-1830, 2011 査読有.

14) Sawai A, Ito Y, Mizuno M, Toda S, Ito I, Hattori R, Matsukawa Y, Gotoh M, Takei Y, Yuzawa Y, Matsuo S: Peritoneal macrophage infiltration is correlated with baseline peritoneal solute transport rate in peritoneal dialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26:2322-2332, 2011. 査読有

15) Mizutani M, Ito Y, Mizuno M, Nishimura H, Suzuki Y, Hattori R, Matsukawa Y, Imai M, Oliver N, Goldshmeding R, Aten J, Krediet R, Yuzawa Y, Matsuo S: Connecting tissue growth factor (CTGF/CCN2) is increased in peritoneal dialysis patients with high peritoneal solute transport rate. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 298:F721-F733, 2010. 査読有

16) Yuzawa Y, Ito Y, Mizuno M, Sawai A, Matsuo S: Pathological changes in chronic eosinophilic peritonitis in peritoneal dialysis patient. *Nephrol. Dial. Transplant. Plus* 3:372-375, 2010. 査読有

17) Yuzawa Y, Sato W, Masuda T, Hamada Y, Tatematsu M, Yasuda Y, Ozaki T, Ito I, Mizuno M, Maruyama S, Ito Y, Matsuo S: Acute kidney injury presenting a feature of leukemic infiltration during therapy for chronic myelogenous leukemia. *Inter Med.* 49:1139-1142, 2010. 査読有

18) Sakamoto I, Ito Y, Mizuno M, Suzuki Y, Sawai A, Maruyama S, Takei Y, Yuzawa Y, Matsuo S: Lymphatic vessels develop during tubulo-interstitial fibrosis. *Kidney Int.* 75:828-838, 2009. 査読有

19) Mizuno M, Ito Y, Mizuno T, Harris CL, Morgan BP, Hepburn N, Noda Y, Yuzawa Y, Matsuo S: Zymosan, but not LPS, developed severe and progressive peritoneal injuries accompanied with complement activation in peritoneal dialysate fluid in a rat peritonitis model with mechanical scraping. *J. Immunol.* 183:1403-1412, 2009. 査読有

20) Kurata K, Maruyama S, Kato S, Sato W, Yamamoto J, Ozaki T, Nitta A, Nabeshima T, Morita Y, Mizuno M, Ito Y, Yuzawa Y, Matsuo S:

Tissue-type plasminogen activator deficiency attenuates peritoneal fibrosis in mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 297:F1510-F1517, 2009. 査読有

21) 水野正司, 伊藤恭彦, 松尾清一、腹膜透析にかかわる腹膜組織障害における補体の関与、医学のあゆみ、査読有、Vol.239、2011、779-783

22) 柴田佳菜子、伊藤恭彦、水野正司、鈴木康弘、平松英樹、伊藤功、戸田晋、丸山彰一、松尾清一、残腎機能を有する腹膜透析患者に対するシナカルゼト投与時の Mg、K 代謝に及ぼす影響、日本透析医学会雑誌、査読有、Vol.44、2011、1007-1013

23) 水野正司、松尾清一、IX. 免疫学的検査 C. 補体および関連物質、概論：補体系の機能と生体防御に果たす役割、日本臨床、査読無、Vol.68、2010、49-52

24) 水野正司、伊藤恭彦、田中章郎、平松英樹、渡辺緑子、稲熊大城、戸田晋、檀原敦、玉井宏史、倉田久嗣、春日弘毅、志水英明、松岡哲平、鶴田吉和、堀江正宣、成瀬友彦、平松武幸、伊藤功、丸山彰一、湯澤由紀夫、松尾清一、名大腎不全システム研究会レジストリによる東海地区 13 施設の 3 年間 (2005~2007) 解析から得た、現在の腹膜透析療法への傾向と問題点、腎と透析 2010、査読有、Vol.69、2010、638-640

25) 伊藤恭彦、水野正司、水谷真、西村勇人、鈴木康弘、澤井晶穂、鬼無洋、湯澤由紀夫、松尾清一、基礎カンファレンス 腹膜線維化に関する基礎研究の進歩、腹膜線維症・機能不全と成長因子 特に TGF- β /CTGF/VEGF からの検討、腎と透析 2010、査読有、Vol.69、2010、128-131

〔学会発表〕(計 78 件)

1) Kim H, Mizuno M, *et al.* Low Serum Cultured Adipose Derived Stem Cells Ameliorate Zymosan Induced Severe Rat Peritonitis Model. ASN Kidney Week 2011 (Philadelphia, USA, 2011.11.8-13)

2) Kinashi H, *et al.* Lymphangiogenesis Develops during Peritoneal Fibrosis in Peritoneal Dialysis Patients and Rat Peritonitis Model. ASN Kidney Week 2011 (Philadelphia, USA, 2011.11.8-13)

3) Ito Y, *et al.* Association of Cardiac Valve Calcification and C-Reactive Protein (CRP) with Cardiovascular and All-Cause Mortality in End-Stage Renal Disease Patients – 10-Year Follow-Up Study from Induction of Hemodialysis Therapy. ASN Kidney Week 2011 (Philadelphia, USA, 2011.11.8-13)

4) Ito Y, *et al.* Evaluation of Diverticular Diseases by Computed Tomography Is Useful for Selection of Peritoneal Dialysis Modality and Asymptomatic Diverticulosis Is Not a Risk Factor for Peritonitis. ASN Kidney Week 2011

(Philadelphia, USA, 2011.11.8-13)

5) 水野正司、腹膜透析に関わる組織障害への補体関与の解析と、腹膜障害に対する抗補体療法の可能性、第48回補体シンポジウム(名古屋、2011.9.2-3)

6) 金恒秀、水野正司、他、腹膜擦過に Zymosan 投与により誘導される高度のラット腹膜炎モデルにおける、低血清培養による脂肪間葉系幹細胞(LASC)の有用性、第48回補体シンポジウム(名古屋、2011.9.2-3)

7) Mizuno M, et al. Non-physiological osmolarity and pH in peritoneal dialysis fluid impair complement regulation in rat peritoneal mesothelial cells. 13th European Complement in Human disease (Leiden, Holland, 2011.8.21-24)

8) 水野智博、水野正司、他、ラット腹膜における膜補体制御因子の役割と腹膜透析の与える影響、第56回日本透析医学会総会(横浜、2011.6.17-19)

9) Mizuno M, et al. Zymosan triggers severe and long-term peritoneal injury accompanied by complement activation in a rat peritonitis model by physical scraping. 7th International congress on uremia research and toxicity (Nagoya, Japan, 2011.5.12-14)

10) Ito Y, et al. Peritoneal macrophage infiltration is the predictor of baseline peritoneal solute transport rate in peritoneal dialysis (PD) patients.

7th International congress on uremia research and toxicity (Nagoya, Japan, 2011.5.12-14)

11) Suzuki Y, et al. Lymphangiogenesis Develops during Tubulo-Interstitial Fibrosis Via the TGF-B-VEGF-C Pathway in Rat Unilateral Ureteral Obstruction. ASN Renal Week 2010(Denver, USA, 2010.11.16-21)

12) Sawai A, et al. Peritoneal Macrophage Infiltration Is Correlated with Baseline Peritoneal Solute Transport Rare Peritoneal Dialysis Patients. ASN Renal Week 2010(Denver, USA, 2010.11.16-21)

13) 水野智博、水野正司、他、正常ラット腹膜における膜補体制御因子の機能的役割と腹膜透析液暴露による補体活性系への影響、第16回日本腹膜透析学会・総会(大分、2010.11.6~7)

14) 水野正司、他、Zymosan による増殖性腹膜炎モデルの作成と補体の関与、第16回日本腹膜透析学会・総会(大分、2010.11.6~7)

15) 水野正司、Thrombotic angiopathy と補体、第47回補体シンポジウム(福島、2010.9.10-11)

16) 水野智博、水野正司、他、正常ラット腹膜における膜補体制御因子の機能的役割、第47回補体シンポジウム(福島、2010.9.10-11)

17) Mizuno M, et al. Membrane complement regulators may protect against encapsular

peritoneal sclerosis (EPS) in a chronic proliferative inflammation model of zymosan peritonitis in the rat. XXII International complement workshop (New York, USA, 2010.8.1-5)

18) 水野正司、他、Zymosan(Z)による増殖性腹膜炎モデルの作成と補体治療の可能性、第55回日透析医学会学術集会・総会(神戸、2010.6.18-20)

19) 澤井晶穂、他、腹膜局所炎症は導入初期腹膜透過性と相関する、第53回日本腎臓学会総会(神戸、2010.6.16-18)

20) Suzuki Y, et al. Lymphangiogenesis develops during tubulo-interstitial fibrosis in rat unilateral urethral obstruction via TGF-β-BEGF-C pathway. ISN NEXUS (Kyoto, Japan, 4/15-18, 2010)

21) 水野正司、他、名大腎不全システム研究会レジストリー、東海地区13施設の3年間(2005~2007)解析から得た、腹膜透析療法の傾向と問題点、第15回日本腹膜透析研究会総会・学術集会(静岡、2009.11.28~29)

22) Ito Y, et al. Connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) is increased in peritoneal dialysis patients with high peritoneal solute transport rate. The 9th European Peritoneal Dialysis Meeting (Strasbourg, France, 2009.10.9-13)

23) Sawai A, et al. Peritoneal local inflammation is correlated with the baseline peritoneal solute transport rate in peritoneal dialysis patients. The 9th European Peritoneal Dialysis Meeting (Strasbourg, France, 2009.10.9-13)

24) Mizuno T, Mizuno M, et al. Specific collaboration between rat membrane complement regulators Crry and CD59 protects peritoneum from damage by autologous complement activation in peritoneal dialysate fluid. 12TH European Meeting on Complement in Human Diseases (Visegrad, Hungary, 9/5-8, 2009)

25) 水野正司、他、Zymosan による増殖性腹膜炎ラットモデルの作成と補体治療の可能性、第46回補体シンポジウム(2009.8.21-22、福岡)

26) 水野正司、他、名大腎不全システム研究会レジストリー解析から得た、腹膜透析療法の傾向と問題点—東海地区13施設の3年間(2005~2007)の動向—、第53回日本透析医学会学術集会・総会(横浜、2009.6.5~7)

[図書] (計3件)

1) 水野正司、7-4.血液透析と補体. メジカルビュー社、編集 大井洋之、木下タロウ、松下操、補体学への招、177-183、2011
松尾清一、水野正司

2) 水野正司、他、8-1. 腎尿管間質障害と補体. メジカルビュー社、編集 大井洋之、木下タロウ、松下操、補体学への招待 210-214、2011

3) 水野正司、2.CKD の診断 4)腎不全合併症
の検索. 医薬ジャーナル社、編集 松尾清一、
インフォームドコンセントのための図説シ
リーズ 慢性腎臓病 (CKD)、34-35、2010

[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

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水野 正司 (MIZUNO MASASHI)

名古屋大学・大学院医学系研究科・寄附講
座講師

研究者番号：20303638

(2) 研究分担者

伊藤 恭彦 (ITO YASUHIKO)

名古屋大学・大学院医学系研究科・寄附講
座教授

研究者番号：60402632

松尾 清一

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70190410

(3) 連携研究者

該当者なし