

## 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 25 年 5 月 23 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22390015

研究課題名（和文）ミスフォールディング疾患に対する創薬研究

研究課題名（英文）Drug development on protein misfolding diseases

研究代表者

甲斐 広文（KAI HIROFUMI）

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：30194658

研究成果の概要（和文）：嚢胞性線維症(CF)および家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)の治療薬の開発研究はあまり進展していない。本研究では、CF患者の主症状である痰排出困難を改善する薬効評価モデルマウスの確立と、FAPの原因タンパク質である transthyretin (TTR)の細胞内品質管理機構に関する研究により、変異 TTR の新規の小胞体品質管理機構を同定し、変異 TTR 概念を提唱し、また、変異 TTR の小胞体品質管理に BiP が特異的に関わることも明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Drug development for cystic fibrosis (CF) and familial amyloid polyneuropathy (FAP) is still in progress. We established the CF-like model mouse stably producing sputum to evaluate various kinds of medicine, and we found a novel mechanism for the endoplasmic reticulum-associated degradation of transthyretin variants in mammalian cells

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2011年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2012年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：薬理学・タンパク質・遺伝病・cystic fibrosis・FAP・CFTR・transthyretin

## 1. 研究開始当初の背景

## (1) CF 関連プロジェクト

約 70% の CF 患者は変異タンパク質  $\Delta F508$  CFTR を有し、この変異体は小胞体に蓄積し小胞体関連分解(ERAD)を受けやすい。本研究グループは、小胞体分子シャペロンである calnexin (CNX) が CFTR の ERAD 抑制に関与すること (*Mol. Biol. Cell*, 2004, *BBA Mol. Cell Res.*, 2008a), 小胞体分子シャペロンである calreticulin (CRT) が小胞体外で形質

膜における CFTR の安定性を低下させる negative regulator であること (*J. Biol. Chem.*, 2006), 親電子性物質が CRT の発現を抑制することにより形質膜の CFTR を安定化すること (*BBRC*, 2007), CFTR が特定の遺伝子 (TLR2) の DNA メチル化レベルを制御していることを明らかにしてきた (*FASEB J.*, 2006). さらに, Bafilomycin A1 感受性経路が CFTR の成熟化に必要であるとともに (*BBA Mol. Cell Res.*, 2006),

phosphatidic acid 代謝が小胞体から形質膜への CFTR の輸送に重要であることを示した (*BBA Mol. Cell Res.*, 2008b). CFTR の関連分子として、気道において CF の病態を左右する上皮性 Na<sup>+</sup>チャネル (ENaC) の発現にも CRT が関与していることを明らかにした (*Exp. Cell Res.*, 2009). さらに、気道炎症・免疫という観点から TLR および Mucin の発現制御については Dr. Li (Rochester Univ.) 等の海外研究者との国際共同研究を展開し多くの成果を上げてきた (*PNAS*, 2001, *J. Biol. Chem.*, 2002abc, 2003, 2005ab, 2006, *Mol. Cell Biol.* 2008 他, 多数).

## (2) FAP 関連プロジェクト

FAP の原因タンパク質である transthyretin (TTR) の主たる産生臓器は肝臓であることから唯一の治療的アプローチは肝移植であるが、海外での移植が禁止 (2008 年 5 月「イスタンブール宣言」) となり、新たな治療法の開発が緊急の課題としてより一層求められてきた。本研究グループは、安東教授らと血漿中の TTR 4 量体を安定化し、アミロイド形成を抑制するための研究 (*FEBS Letters*, 2005, *Amyloid*, 2008) を行ってきたが、海外ベンチャーが新たに見いだした 4 量体安定化薬は、基礎データは良好でも、実際に臨床試験に関わった臨床医の評価は極めて低いという。そこで、本研究グループは独自に、肝移植と同等の効果を有する変異 TTR 産生抑制薬の開発が可能であるという新規の概念を提唱した (*EMBO J.*, 2007). さらに、関連の知見として、変異 TTR の小胞体品質管理に BiP が特異的に関わることも明らかにした (*J. Biol. Chem.*, 2009). さらに展開として、変異 TTR 産生抑制薬の分子設計のために劇症型 FAP の変異 TTR の X 線構造解析を行いつつ (*Biochemistry*, 2010), TTR を無毒性のタンパク質を凝集させ、アミロイド形成抑制活性を示す天然化合物も見いだし、X 線構造解析により変異 TTR における薬物結合部位も同定している (*Biochemistry*, 2010).

## 2. 研究の目的

本研究は、世界的に有名な遺伝病、嚢胞性線維症 (CF) および地元熊本にフォーカスがある遺伝病、家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) という希少疾患に対する創薬研究である。本申請期間内に、CF については、薬効評価系として、CF と同様の呼吸器病態を示す *in vivo* 評価モデルを構築し、FAP については、TTR 4 量体形成阻害薬の標的部位を同定し、FAP 治療薬開発のためのリード化合物を見い出す。

## 3. 研究の方法

### 3.1. 慢性的な粘液過剰分泌を呈するモデルの確立

申請者は、上記の「βENaC 気道上皮特異的 transgenic mice」を数年前に輸入し、本研究室において交配を重ね、その過程で、本マウスの欠点である致死率の高さを改善した低致死率マウス群を確立した。興味深いことに、我々の確立した低致死率マウス群は、軽度の、かつ安定した粘液過剰分泌の表現型を呈した (未発表)。そこで、本研究では、これら低致死率のマウスを、CF 様症状を呈する慢性炎症モデルとして評価可能か詳細に明らかにすることを目的とし、種々の生化学的、組織化学的手法を用いて病態の解析を行う。CF の病態モデルとして最も適した週齢及び評価に最も適したバイオマーカー (MUC5AC, 種々のサイトカイン等) の選別を行う。

### 3.2. ドッキングシミュレーションによる TTR 4 量体形成阻害薬の候補化合物の探索

これまでの研究により、TTR の 4 量体は単量体 → 2 量体 → 4 量体の経路で形成されること、さらに、TTR 変異体は単量体時のみ細胞外分泌抑制を受けることが明らかになっている。したがって、TTR 変異体の細胞外分泌抑制を期待する TTR 4 量体形成阻害薬の作用標的として、2 量体形成阻害に焦点を当てリガンド結合部位探索を行う。リガンド結合部位探索では、TTR 単量体に存在する結合ポケットを検出するが、特に、2 量体形成阻害の標的部位候補および 4 量体形成を阻害する変異部位である Phe87, Leu110 に着目する。リガンド結合部位探索およびドッキングシミュレーションは統合計算化学システムおよび様々な立体配座の化合物を含む 3D 配座データベースを用いて行う。

### 3.3. 変異 TTR の産生抑制薬の妥当性に関する細胞生物学的検討

変異 TTR が小胞体において 4 量体が形成されなくなった場合に、単量体が小胞体に蓄積される。蓄積された変異タンパク質がどのように分解されていくかの機序を解明しておくことは重要であるため、一般の細胞生物学的な技術を駆使し、分解機構の全貌を明らかにした。

## 4. 研究成果

### 4.1. CF 様モデルの確立

C57BL/6-βENaC-Tg マウスを比較的気道抵抗性の強いマウス系統である C57BL/6<sup>14</sup> へ戻し

交配を複数回行った。その結果、気道閉塞性粘液貯留を安定的に自然発症するマウスを作製することに成功した(C57BL/6-βENaC-Tg)。また、興味深いことに、C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺組織において、杯細胞のマーカ-遺伝子および粘液関連遺伝子の発現上昇が認められたことから、C57BL/6-βENaC-Tg マウスの粘液貯留には、気道上皮組織からの過剰分泌が関与している可能性が示唆された。さらに、C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺組織において、免疫細胞の浸潤や炎症性サイトカインの発現量も増加していたことから、炎症病態も誘発されていることを明らかにした。これらの結果より、C57BL/6-βENaC-Tg マウスは、安定的に粘液貯留症状を自然発症する新規の閉塞性肺疾患モデルマウスとなり得ることが示唆された。閉塞性肺疾患に対する新規治療薬開発において、C57BL/6-βENaC-Tg マウスが有用な薬物評価モデルであるか否かを明らかにし、さらに本マウスを用いて、閉塞性肺疾患に対する新規創薬ターゲット分子を探索することを目標とし、以下に示す3つの観点から検討を行った。

- 1) C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺気腫病態に関する組織学的解析
- 2) C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺機能に関する呼吸力学的解析
- 3) Microarray 法を用いた C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺組織における遺伝子発現変動の網羅的解析

#### 1) C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺気腫病態に関する組織学的解析

まず、C57BL/6-βENaC-Tg マウスが肺気腫病態を呈しているか否かを明らかにするために組織学的解析を行った。気道病態を有する状態の14-16週齢のC57BL/6-βENaC-Tg マウスと野生型マウスから左肺を摘出し、中性緩衝ホルマリン液に浸漬し固定した後、パラフィン包埋によりブロックを作製した。パラフィンブロックは厚さ6 μmで薄切し、組織標本作製した。その後、PAS (Periodic acid-Schiff) & Alcian Blue 重染色にて粘液貯留症状と肺気腫病態の検討を行った。上部3カ所、中部4カ所、下部3カ所、計10カ所の視野をランダムに選択し、1辺300 μmの格子線を引き、この格子線と肺胞壁の交点を数え、格子線の全長を交点の数で除することにより、平均肺胞径 (Mean Linear Intercepts: MLI) を算出した。この MLI は

一般に肺気腫病態の評価に用いられている指標である<sup>15</sup>。その結果、C57BL/6-βENaC-Tg マウスの MLI は、野生型マウスに比べて有意に拡大しており、C57BL/6-βENaC-Tg マウスは粘液貯留症状のみならず、肺気腫病態も呈するモデルであることを明らかにした。

#### 2) C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺機能に関する呼吸力学的解析

次に、C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺機能が低下しているか否かを検討した。肺機能測定には、小動物用の高性能呼吸解析コンピュータシステム flexiVent (SCIREQ Inc.) を用いた。flexiVent では、Resistance, Elastance, Compliance を指標とする肺の器質的変化に加え、呼吸機能の指標である0.1秒率(努力肺活量の何%を0.1秒間に呼出できるか)を用いて機能的変化を調べることが可能である。まず、器質的変化に関する検討を行った。肺の組織抵抗の指標である Resistance (組織抵抗) は、野生型マウスとC57BL/6-βENaC-Tg マウスとの間に有意な差は認められなかったが、一方、肺の柔軟性の指標である Elastance (肺の縮み易さ) は野生型マウスと比較して有意に低下し、また、Compliance (肺の膨らみ易さ) は有意に上昇していることを明らかにし、C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺組織は柔軟性が低下していることを示した。

次に、機能的変化に関する検討を行った。呼吸機能の評価は、0.1秒間の呼出量(FEV0.1)を努力肺活量(FVC)で除した値の0.1秒率(FEV0.1%)により評価した。スパイロメトリーを用いての1秒率の測定による呼吸機能の評価は、実際のヒトのCOPD患者における診断基準としても用いられており、今回マウスで測定した0.1秒率は、臨床的にも意味のあるパラメーターである可能性が高い。その結果、C57BL/6-βENaC-Tg マウスにおける0.1秒率は、野生型マウスと比較して有意に低下しており、C57BL/6-βENaC-Tg マウスは呼吸機能障害を有するモデルであることを明らかにした。

#### 3) Microarray 法を用いた C57BL/6-βENaC-Tg マウスの肺組織における遺伝子発現変動の網羅的解析

これまでの結果より、本分野で確立したC57BL/6-βENaC-Tg マウスは、ENaC 過剰活性化による気道粘液貯留症状のみならず、気道炎症、肺気腫病変および呼吸機能障害を有する新規の閉塞性肺疾患モデルとなり得ることを示した。

そこで、本項では、C57BL/6-βENaC-Tg マウスにおける病態制御因子を網羅的に探索するために、肺組織における遺伝子発現変動についての microarray 解析を行い、新規創薬ターゲット分子の探索を試みた。

野生型マウスと C57BL/6-βENaC-Tg マウスから右肺を摘出し、RNA の分解を避けるべく RNeasy<sup>®</sup> に浸漬し、4°C で 1 日回転浸透させたものを使用した。Microarray 解析は、東レ株式会社に委託し、“3D-Gene” mouse oligo chip 24k を用い、蛍光色素 Cy3 で WT、Cy5 で C57BL/6-βENaC-Tg を検出し、それぞれの蛍光強度を比較することにより検討した。その結果、C57BL/6-βENaC-Tg マウス肺組織において、野生型マウスと比較して、検出遺伝子 23,474 gene の中で 125 gene が 200% 以上増加し、34 gene が 50% 以下に減少していることを明らかにした。続いて、遺伝子の中で、200% 以上に増加、または 50% 以下に減少したものに関して、バイオインフォマティクスの観点から解析を行った。その結果、プロテアーゼ系の活性化、酸化ストレスが病態の悪化に密接に関与していることが明らかになった。

既存の去痰薬について、薬理評価試験を実施したが、現時点では、有用な薬物は見いだされていない。

#### 4.2. 4量体不安定化合物の探索

in silico での有用化合物の探索を富山大学薬学部の水口教授のグループと共同で行なった。その結果、数個の候補化合物が見いだされてきた。特許の関係でデータ公開は出来ないが、現在、その有用性について追及中である。

#### 4.3. 新たな変異 TTR 分解機構

TTR は本来、非糖鎖付加タンパク質である。我々は ERAD 阻害時において、D18G TTR (ERAD 基質) が N 型糖鎖修飾を受けることを見出した。そこで本研究では、変異 TTR への N 型糖鎖修飾機構の分子機構および生理的意義の解明を目指し、研究を進め、D18G TTR への N 型糖鎖修飾は翻訳後修飾であること、STT3B を触媒サブユニットとして有するオリゴ糖転移酵素により行われることを見出した。この知見は、フォールディング異常のタンパク質の新たなタンパク質分解経路の存在を示した。Mol. Cell 2012 に発表でき、表紙に採用された。また、Faculty of 1000 にも採用された。

#### 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 Sato T, Sako Y, Sho M, Momohara M, Suico MA, Shuto T, Nishitoh H, Okiyoneda T, Kokame K, Kaneko M, Taura M, Miyata M, Chosa K, Koga T, Koga SM, Wada I, Kai H. STT3B-dependent posttranslational N-glycosylation as a novel surveillance system for secretory protein. *Mol. Cell* 47: 99-110 (2012), 査読有, 表紙にてハイライトされ, 表紙のデザインに採用
- ② Taura M, Suico MA, Koyama K, Komatsu K, Miyakita R, Matsumoto C, Kudo E, Kariya R, Goto H, Kitajima S, Takahashi C, Shuto T, Nakao M, Okada S, Kai H. Rb/E2F1 Regulates the Innate Immune Receptor Toll-Like Receptor 3 in Epithelial Cells. *Mol. Cell Biol.* 32:1581-90 (2012), 査読有
- ③ Mizunoe S, Shuto T, Suzuki S, Matsumoto C, Watanabe K, Ueno-Shuto K, Suico MA, Onuki K, Gruenert DC, Kai H. Synergism Between Interleukin (IL)-17 and Toll-like Receptor 2 and 4 Signals to Induce IL-8 Expression in Cystic Fibrosis Airway Epithelial Cells. *J. Pharmacol. Sci.* 118: 512-520 (2012), 査読有
- ④ Hashimoto Y, Shuto T, Mizunoe S, Tomita A, Koga T, Sato T, Takeya M, Suico MA, Niibori A, Sugahara T, Shimasaki S, Sugiyama T, Scholte B, Kai H. CFTR-deficiency renders mice highly susceptible to cutaneous symptoms during mite infestation. *Lab Invest.* 91(4):509-18 (2011), 査読有
- ⑤ Taura M, Suico MA, Fukuda R, Koga T, Shuto T, Sato T, Morino-Koga S, Okada S, Kai H. MEF/ELF4 transactivation by E2F1 is inhibited by p53. *Nucleic Acids Res.* 39(1):76-88 (2011), 査読有
- ⑥ Sugiyama T, Shuto T, Suzuki S, Sato T, Koga T, Suico MA, Kusuhashi H, Sugiyama Y, Cyr DM, Kai H. Posttranslational negative regulation of glycosylated and non-glycosylated BCRP expression by Derlin-1. *Biochem Biophys Res Commun.* 404(3):853-8(2011), 査読有
- ⑦ Miyata M, Sato T, Mizuguchi M, Nakamura T, Ikemizu S, Nabeshima Y, Susuki S, Suwa Y, Morioka H, Ando Y, Suico MA, Shuto T, Koga T, Yamagata Y, and Kai H. Role of the glutamic acid 54 residue in transthyretin

stability and thyroxine binding. *Biochemistry* 49: 114-23 (2010), 査読有

⑧ Miyata M, Sato T, Kugimiya M, Sho M, Nakamura T, Ikemizu S, Chirifu M, Mizuguchi M, Nabeshima Y, Suwa Y, Morioka H, Arimori T, Suico MA, Shuto T, Sako Y, Momohara M, Koga T, Morino-Koga S, Yamagata Y, Kai H. Crystal structure of green tea polyphenol(-)-epigallocatechin gallate (EGCG)-transthyretin complex reveals novel binding site distinct from thyroxine binding site. *Biochemistry* 49:6104-14 (2010), 査読有

⑨ Taura M, Fukuda R, Suico MA, Eguma A, Koga T, Shuto T, Sato T, Morino-Koga S, Kai H. TLR3 induction by anticancer drugs potentiates poly I:C-induced tumor cell apoptosis. *Cancer Sci.* 101(7):1610-1 (2010), 査読有

⑩ Shuto T, Ono T, Ohira Y, Shimasaki S, Mizunoe S, Watanabe K, Suico MA, Koga T, Sato T, Morino S, Sato K, Kai H. Curcumin decreases toll-like receptor-2 gene expression and function in human monocytes and neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun.* 398(4):647-52 (2010), 査読有

⑪ Shimasaki S, Koga T, Shuto T, Suico MA, Sato T, Watanabe K, Morino-Koga S, Taura M, Okada S, Mori K and Kai H. Endoplasmic reticulum stress increases the expression and function of toll-like receptor-2 in epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 402(2):235-40 (2010), 査読有

[学会発表] (計 14 件)

1. 佐藤 卓史, 庄 美里, スイコ メリーアン, 首藤 剛, 甲斐 広文 (翻訳後 N 型糖鎖修飾を介した小胞体品質管理機構による家族性アミロイドーシスの発症性制御機構の解明), 日本薬学会第 133 年会, 2013. 3. 27-30, パシフィコ横浜(横浜)
2. 福田 亮介, 小山 皓介, 古賀 友紹, 甲斐 友佳理, スイコ メリーアン, 大町 紘平, 本村 敬士, 首藤 剛, 甲斐 広文 (慢性腎疾患 Alport syndrome モデルマウスを用いた癌抑制遺伝子 p53 の腎保護的機能の解明), 第 86 回日本薬理学会年会, 2013. 3. 21-23, 福岡国際会議場(福岡)
3. 庄 美里, 佐藤 卓史, 帖佐 圭佑, 山川 瑠斐子, スイコ メリーアン, 首藤 剛, 甲斐 広文 (異常な構造を持つ分泌タンパク質の新たな小胞体品質管理機構), 第 86 回日本薬理学会年会, 2013. 3. 21-23, 福岡国際会議場(福岡)
4. M. Suico, R. Miyakita, K. Koyama, M.

Taura, T., Shuto, H. Kai, (p53 regulates the Ets transcription factor MEF/Elf4 via MDM2.), ASCB 2012 Annual Meeting, 2012. 12. 15-19, Moscone Center, San Francisco (USA)

5. 庄 美里, 佐藤 卓史, 西頭 英起, 小亀 浩市, 金子 雅幸, 和田 郁夫, メリーアン スイコ, 首藤 剛, 甲斐 広文 (変異トランスサイレチンの翻訳後 N 型糖鎖修飾の意義とその制御因子の探索), 第 85 回日本生化学会大会, 2012. 12. 14-16, 福岡国際会議場(福岡)
6. 福田 亮介, 小山 皓介, 古賀 友紹, 甲斐 友佳理, Mary Ann Suico, 首藤 剛, 甲斐 広文 (慢性腎疾患 Alport syndrome モデルマウスを用いた癌抑制遺伝子 p53 の腎保護的機能の解明), 第 65 回日本薬理学会西南部会, 2012. 11. 23, 熊本大学(熊本)
7. 甲斐 広文, (新しい薬効評価モデル、気道粘液分泌亢進トランスジェニックマウスと去痰薬の再評価), 日本肺サーファクタント・界面医学会 第 48 回学術研究会, 2012. 10. 27, 熊本市国際交流会館(熊本)
8. Kai H, Sato T, Sho M, Sako Y, M. A. Suico, Shuto T, (STT3B-dependent posttranslational N-glycosylation as a surveillance system for secretory protein.), Quality Control From Molecules to Organelles, 2012. 9. 19-22, EMB Advanced Training Centre, Heidelberg (Germany)
9. 庄 美里, 佐藤 卓史, 迫 康弘, 桃原 真美子, 西頭 英起, 金子 雅幸, メリーアン スイコ, 首藤 剛, 甲斐 広文, (翻訳後 N 型糖鎖修飾によるトランスサイレチンの新規小胞体品質管理機構), 第 28 回日本薬学会九州支部大会, 2011. 12. 10-11, 福岡大学薬学部(福岡)
10. 甲斐 広文, (アミロイド原性タンパク質の選択的分泌抑制を企図した創薬研究), 第 5 回薬学研究フォーラム in 東京~九州からの情報発信~, 2011. 11. 14, 日本薬学会長井記念館(東京)
11. 首藤 剛, 杉山 崇, 鈴木 伸悟, 佐藤 卓史, 古賀 友紹, Mary Ann Suico, 楠原 洋之, 杉山 雄一, 甲斐 広文 (糖鎖型および脱糖鎖型 BCRP タンパク質の Derlin-1 による負の翻訳後発現調節), 第 5 回トランスporter 研究会九州部会, 2011. 9. 17, ホテル JAL シティ宮崎(宮崎)
12. 鈴木 伸悟, 首藤 剛, 佐藤 卓史, 金子 雅幸, Mary Ann Suico, 甲斐 広文, (ABC トランスポーター ABCG5 および ABCG8 の小胞体における翻訳後発現制御機構の解明), 第 5 回トランスporter 研究会九州部会, 2011. 9. 17, ホテル JAL シティ宮崎(宮崎)
13. M. Sho, T. Sato, Y. Sako, M. Momohara,

H. Nishitoh, M. Kaneko, M. A. Suico, T. Shuto, H. Kai, (HRD1-dependent endoplasmic reticulum-associated degradation pathway is involved in the clearance of transthyretin variant.), 5th International Congress on Stress Response in Biology and Medicine, 2011.8.21-25, Loews Hotel Le Concorde, Quebec (USA)

14. 首藤 剛, 杉山 崇, 鈴木 伸悟, 佐藤 卓史, 古賀 友紹, Mary Ann Suico, 楠原 洋之, 杉山 雄一, 甲斐 広文 (糖鎖型および脱糖鎖型 BCRP タンパク質の Derlin-1 による負の翻訳後発現調節), 第6回トランスポーター研究会年会, 2011.6.11-12, 東北大学片平さくらホール (宮城県)

[その他]

ホームページ等

<http://molmed730.org/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

甲斐 広文 (KAI HIROFUMI)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：30194658

### (2) 研究分担者

首藤 剛 (SHUTO TSUYOSHI)

熊本大学・大学院生命科学研究部・准教授

研究者番号：80333524

メリーアンスイコ (MARY ANN SUICO)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：20363525