

平成22年 5月20日現在

研究種目：基盤研究（A）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18206083
 研究課題名（和文） 人工受容体を用いた樹状細胞の増幅システムの開発とガン治療への応用
 研究課題名（英文） Development of artificial receptor-based amplification system of dendritic cells for cancer therapy
 研究代表者
 長棟 輝行（NAGAMUNE TERUYUKI）
 東京大学・大学院工学系研究科・教授
 研究者番号：20124373

研究成果の概要（和文）： 樹状細胞は有能な抗原提示細胞であり、抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞を効率良く活性化できることから、がん治療への応用が期待されている。しかし、樹状細胞を効率良く増幅する手法は未だ確立されていない。そこで本研究では、樹状細胞の源である造血幹細胞においてサイトカインや増殖因子とは全く異なる抗原に反応して増殖シグナルを伝達する人工受容体を発現させ、抗原添加によって造血幹細胞の増幅が可能であることを実証した。

研究成果の概要（英文）： Since dendritic cells are potent antigen-presenting cells that can efficiently activate antigen-specific cytotoxic T cells, they are promising for application to cancer therapy. However, the method to efficiently expand dendritic cells has remained to be established. In this study, an artificial cytokine receptor recognizing antigen quite different from natural cytokines or growth factors was expressed in a hematopoietic stem cell, which is a source of dendritic cells. Consequently, we successfully demonstrated the expansion of hematopoietic stem cells via antigen-induced activation of the artificial cytokine receptor.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	12,600,000	3,780,000	16,380,000
2007年度	9,600,000	2,880,000	12,480,000
2008年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
年度			
総計	38,200,000	11,460,000	49,660,000

研究分野： 細胞工学

科研費の分科・細目： プロセス工学 / 生物機能・バイオプロセス

キーワード： 抗体、受容体、造血前駆細胞、増殖制御、シグナル伝達、がん治療

1. 研究開始当初の背景

樹状細胞を用いた免疫療法は、免疫系の最初の段階である樹状細胞の抗原提示を利用したもので、他の手法より副作用が少なく、

広範かつ強いガン免疫誘導ができることが見込まれている。樹状細胞は骨髄の造血前駆細胞である CD34 陽性細胞に由来し、未熟樹状細胞へと分化して外来抗原を取り込んで

提示し、成熟樹状細胞となる。従って、ガンの治療プロセスとしてはガン患者本人から CD34 陽性細胞を採取して増幅し、必要に応じて未熟樹状細胞に分化させてガン抗原を取り込ませて提示させ、患者体内に戻すことが考えられる。

このプロセスの中で、CD34 陽性細胞の増幅に関しては、現状では不十分な成果しか挙げられていない。既往の方法としては、Flt3 リガンド(FL)、幹細胞因子(SCF)、スロンボポエチン(TPO)、インターロイキン 6 (IL-6)、IL-3 を組み合わせて添加した培地中での CD34 陽性細胞の増幅が報告されているが、数ヶ月程度が細胞増殖・未分化維持の限度であり、未分化維持増殖はある程度達成できても、同時に分化も生じてしまうことが問題点である。従って、天然の受容体とそのリガンドを添加することでの樹状前駆細胞の増幅には限界があると考えられる。

2. 研究の目的

そこで、本研究では樹状前駆細胞においてサイトカインや増殖因子とは全く異なる抗原に反応して増殖シグナルを伝達する人工受容体を発現させ、分化を抑えて未分化維持増殖だけを特異的に長期間達成できるシステムを構築することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)キメラ受容体の分子構築と培養細胞株 Ba/F3 を用いた機能解析

まず、樹状前駆細胞として、全ての血球の源である造血幹細胞を選び、造血幹細胞での増幅効果が示されている受容体として c-mpl または c-kit をエンジニアリングし、人工受容体を構築した。具体的には、c-mpl または c-kit の細胞外ドメインを抗フルオレセイン(FL)一本鎖抗体(ScFv)とエリスロポエチン受容体 D2 ドメインで置換したキメラ受容体(S-mpl または S-kit)を構築した(図 1)。まずは、構築したキメラ受容体が抗原である FL 標識 BSA(BSA-FL)に反応して増殖シグナルを伝達できるかどうかを検証するために、IL-3 依存性 pro-B 細胞株 Ba/F3 を用いて実験を行っ

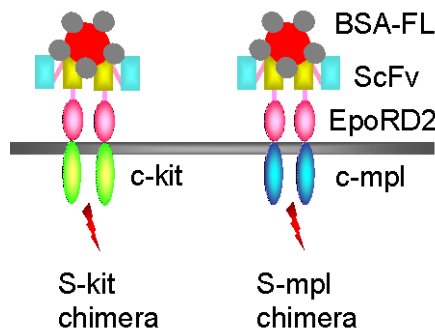


図 1 キメラ受容体の模式図

た。レトロウィルスベクターにキメラ受容体遺伝子および遺伝子導入細胞のマーカとして緑色蛍光蛋白質 EGFP 遺伝子を組み込み、Ba/F3 細胞に導入後、IL-3 を除去し抗原である BSA-FL を添加した培地で培養し、増殖する細胞を得た。得られた細胞が BSA-FL 濃度依存的に増殖することを増殖アッセイで確認した。

(2)キメラ受容体による造血幹細胞の in vitro 増幅と機能解析 (図 2)

キメラ受容体 S-mpl と S-kit を造血幹細胞に導入し、抗原である BSA-FL を添加することで造血幹細胞を増幅できるかどうかを検証した。C57BL/6J マウスの骨髄から CD34-KSL 造血幹細胞 (CD34⁺c-Kit⁺Sca-1⁺Lin⁻: Lin⁻は分化抗原陰性) をフローサイトメーターで分取した。これに EGFP のみを発現するネガティブコントロール (IG)、または EGFP とキメラ受容体 S-mpl, S-kit を共発現するレトロウィルスベクター (それぞれ S-mpl, S-kit) をウイルス感染効率 Multiplicity of infection (MOI)=500 で導入した。その後、リガンド添加培養として S-mpl キメラに関しては SCF only, SCF+TPO, SCF+BSA-FL の 3 条件下、S-kit キメラに関しては TPO only, TPO+SCF, TPO+BSA-FL の 3 条件下 (SCF 50 ng/ml, TPO 50 ng/ml, BSA-FL 5 μg/ml) で培養し、増殖アッセイと細胞形態分析を行った。なお、遺伝子導入なしで培養したネガティブコントロール (-) も作製した。

また、S-mpl キメラによって増幅された細胞が造血幹細胞の機能を保っているかどうかを調べるために、SCF only、SCF+TPO および SCF+BSA-FL の条件下で増幅した細胞をドナー細胞とし、競合細胞と同時に放射線処理したマウスに移植して骨髄再構築能評価を行った。移植後 12 週まで 4 週間ごとに採血し、移植細胞におけるドナー細胞の割合を調べ、キメリズム値を算出した。キメリズム値が高いほど、造血幹細胞が増幅されたことを示す。

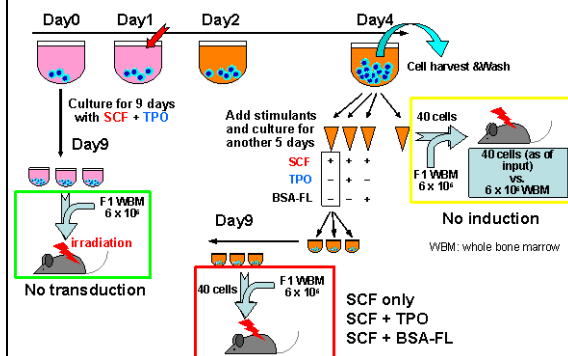


図 2 造血幹細胞の増幅実験の模式図

(3)キメラ受容体のシグナル伝達分子結合モチーフの改変による増殖シグナル増強

(2)の結果より、S-mpl キメラ受容体は増殖シグナルを伝達したが、内在性の天然型受容体 c-mpl の増殖シグナルよりも弱いことが分かった。そこで、造血幹細胞の増殖は STAT5 により正、STAT3 により負に制御されることが報告されていることに基づいて、より強いシグナルを伝達可能な受容体を構築することを考えた。具体的には、S-mpl キメラ受容体の細胞内ドメインの STAT3 結合モチーフを除去した trunc.あるいは STAT3 の結合モチーフ(YxxQ)を STAT5 結合モチーフ (YxxL) に変異させた Q to L の2種類のキメラ受容体を新たに構築した。Ba/F3、造血幹細胞において、これらの新規受容体の機能解析を(1)、(2)と同様に行った。

4. 研究成果

(1)キメラ受容体の分子構築と培養細胞株 Ba/F3 を用いた機能解析

S-mpl、S-kit を Ba/F3 細胞に導入後 BSA-FL を添加した培地で選択した結果、EGFP 陽性細胞のみが選択的に増殖した。また、増殖アッセイの結果、選択された細胞はいずれも BSA-FL 濃度依存的に増殖したことから、キメラ受容体発現細胞を抗原により選択的に増幅できることが示された(図3、図4)。

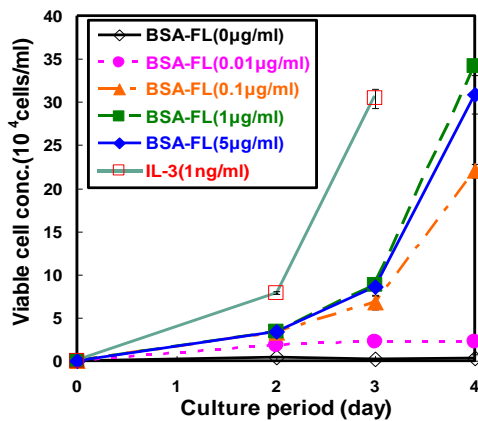


図3 S-mpl 発現 Ba/F3 細胞の抗原依存的増殖

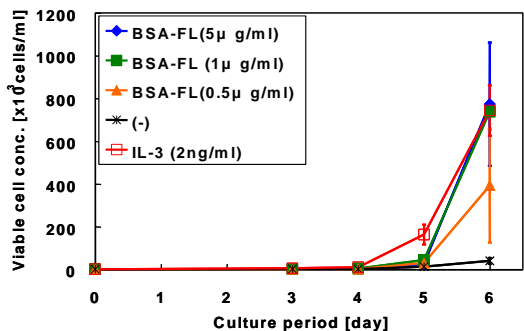


図4 S-kit 発現 Ba/F3 細胞の抗原依存的増殖

(2)キメラ受容体による造血幹細胞の in vitro 増幅と機能解析

S-mpl または S-kit 発現レトロウイルスベクターをマウス造血幹細胞に導入し、遺伝子導入細胞を、SCF only、TPO only、SCF+TPO、TPO+BSA-FL、および SCF+BSA-FL 存在下で5日間培養し、各条件下で増幅された細胞数と EGFP 陽性率を比べた。その結果、S-kit 導入造血幹細胞ではキメラ受容体による顕著な増殖は見られなかったが、S-mpl 導入造血幹細胞では、SCF+BSA-FL を加えた場合の細胞数が SCF のみの場合の4倍以上に増加し、EGFP 陽性細胞率も増加した(図5)。さらに、S-mpl 導入造血幹細胞について、増幅された細胞が造血幹細胞の機能を保っているかどうかを調べるために、SCF only、SCF+TPO および SCF+BSA-FL の条件下で増幅した細胞をドナー細胞とし、競合細胞と同時に放射線処理したマウスに移植して骨髄再構築能評価を行った。移植後12週まで4週間ごとに採血し、移植細胞におけるドナー細胞の割合を調べた結果、SCF+BSA-FL で増殖誘導したドナーの造血幹細胞は SCF のみの場合より高い割合でマウスの生体内に存在した(図6)。

以上より、S-mpl キメラ受容体を用いて遺伝子導入造血幹細胞を in vitro で選択的に増幅することに成功した。

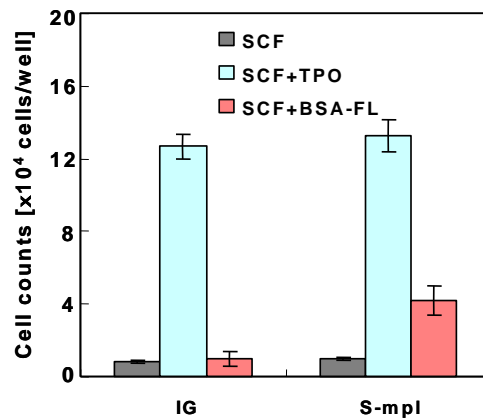


図5 S-mpl 発現造血幹細胞の in vitro 増幅

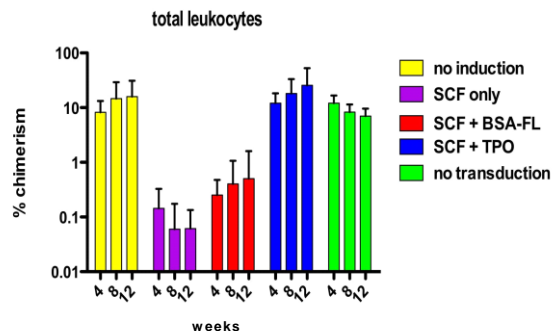


図6 S-mpl 発現造血幹細胞の in vivo 移植実験の結果

(3)キメラ受容体のシグナル伝達分子結合モチーフの改変による増殖シグナル増強

増殖促進効果を上げるため、S-mpl のシグナルが強くなるように受容体を改変した新規キメラ受容体 S-mpl (trunc.) と S-mpl (Q to L) を構築した。これらのキメラ受容体を Ba/F3 細胞に導入した結果、trunc. では BSA-FL 依存的に増殖シグナルを伝達したが、Q to L は BSA-FL 応答性は見られなかった。これらのキメラ受容体をマウス造血幹細胞に導入し、遺伝子導入細胞を、SCF only、SCF+TPO、SCF+BSA-FL で 6 日間培養し、各条件下で増幅された細胞数を比較した。その結果、S-mpl(trunc.) 導入造血幹細胞では、SCF + BSA-FL で増幅した場合には、SCF+TPO で増幅した場合とほぼ同等の増幅効果が得られた(図 7)。以上より、ScFv-c-mpl(trunc.) キメラ受容体を用いて遺伝子導入造血幹細胞を効率よく増幅できることが示された。

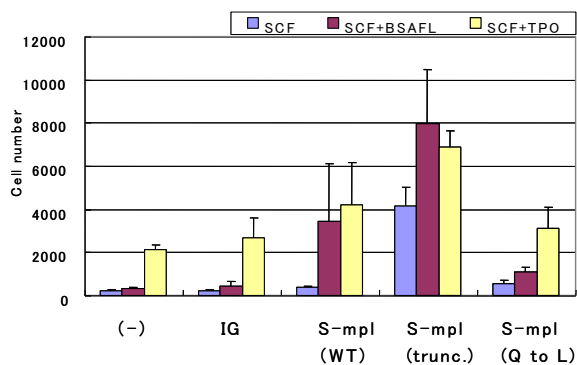


図 7 モチーフ改変型受容体を用いた造血幹細胞の増幅結果

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 1 1 件)

1. Kawahara, M., Ueda, H. and Nagamune, T. "Engineering cytokine receptors to control cellular functions", *Biochem. Eng. J.* **48**, 283-294, 2010. 【査読あり】
2. Sogo, T., Kawahara, M., Ueda, H., Otsu, M., Onodera, M., Nakauchi, H. and Nagamune, T. "T cell growth control using hapten-specific antibody/interleukin-2 receptor chimera." *Cytokine* **46**, 127-136, 2009. 【査読あり】
3. Liu, W., Kawahara, M., Ueda, H. and Nagamune, T. "The influence of domain structures on the signal transduction of chimeric receptors derived from the erythropoietin receptor." *J. Biochem.* **145**, 575-584, 2009. 【査読あり】
4. Tanaka, K., Kawahara, M., Ueda, H. and Nagamune, T. "Selection and growth regulation of genetically modified cells with

hapten-specific antibody/receptor tyrosine kinase chimera." *Biotechnol. Prog.* **25**, 1138-1145, 2009. 【査読あり】

5. Liu, W., Kawahara, M., Ueda, H. and Nagamune, T. "Construction of a fluorescein-responsive chimeric receptor with strict ligand dependency." *Biotechnol. Bioeng.* **101**, 975-984, 2008. 【査読あり】
 6. Sogo, T., Kawahara, M., Tsumoto, K., Kumagai, I., Ueda, H. and Nagamune, T. "Selective expansion of genetically modified T cells using an antibody/interleukin-2 receptor chimera." *J. Immunol. Methods* **337**, 16-23, 2008. 【査読あり】
 7. Kawahara, M., Shimo, Y., Sogo, T., Hitomi, A., Ueda, H. and Nagamune, T. "Antigen-mediated migration of murine pro-B Ba/F3 cells via an antibody/receptor chimera." *J. Biotechnol.* **133**, 154-161, 2008. 【査読あり】
 8. Kawahara, M., Ueda, H., Tsumoto, K., Kumagai, I. and Nagamune, T. "Mimicry of erythropoietin and interleukin-6 signaling by an antibody/cytokine receptor chimera in murine myeloid 32D cells." *J. Biochem.* **141**, 563-571, 2007. 【査読あり】
 9. Kawahara, M., Inoue, T., Ren, X., Sogo, T., Yamada, H., Katoh, M., Ueda, H., Oshimura, M. and Nagamune, T. "Antigen-mediated growth control of hybridoma cells via a human artificial chromosome." *Biochim. Biophys. Acta* **1770**, 206-212, 2007. 【査読あり】
 10. Kawahara, M., Ogo, Y., Tsumoto, K., Kumagai, I., Ueda, H. and Nagamune, T. "Growth control of hybridoma cells with an artificially induced EpoR-gp130 heterodimer." *Cytotechnology* **52**, 171-179, 2006. 【査読あり】
 11. Yamada, H., Kunisato, A., Kawahara, M., Tahimic, C.G.T., Ren, X., Ueda, H., Nagamune, T., Katoh, M., Inoue, T., Nishikawa, M. and Oshimura, M. "Exogenous gene expression and growth regulation of hematopoietic cells via a novel human artificial chromosome." *J. Hum. Genet.* **51**, 147-150, 2006. 【査読あり】
- [学会発表] (計 3 3 件)
1. 十河 孝浩, 河原 正造, 上田 宏, 大津 真, 小野寺 雅史, 中内 啓光, 長棟 輝行 "フルオレセイン応答性キメラ受容体を用いた T 細胞の増殖制御" 化学工学会第 75 年会、2010 年 3 月 19 日、鹿児島大学
 2. Masahiro Kawahara, Yusuke Shimo, Azusa Hitomi, Yuki Mochida, Takahiro Sogo, Hiroshi Ueda, Teruyuki Nagamune

- “Fluorescein-responsive migration of mammalian cells equipped with an antibody/receptor chimera” APBioChEC'09、2009年11月26日、神戸国際会議場
3. Takahiro Sogo, Masahiro Kawahara, Hiroshi Ueda, Makoto Otsu, Masafumi Onodera, Hiromitsu Nakauchi, Teruyuki Nagamune “Growth promotion of mouse T cells using a fluorescein-responsive chimeric interleukin-2 receptor” 第82回日本生化学会大会、2009年10月24日、神戸国際会議場
 4. 河原 正浩, 下茂 佑輔, 人見 梓, 持田 祐希, 十河 孝浩, 上田 宏, 長棟輝行 “抗体/受容体キメラを用いた細胞運動制御” 第61回日本生物工学会大会、2009年9月24日、名古屋大学東山キャンパス
 5. 陳 建宏, 十河 孝浩, 河原 正浩, 上田 宏, 大津 真, 小野寺 雅史, 中内啓光, 長棟輝行 “抗体-サイトカイン受容体キメラによる遺伝子導入造血幹細胞の増幅法” 化学工学会第41回秋季大会、2009年9月17日、広島大学東広島キャンパス
 6. 富田麗, 山口哲志, 長棟輝行 “樹状細胞による抗体アンカーリング癌細胞の食食と癌細胞特異的免疫の活性化” 化学工学会第41回秋季大会、2009年9月16日、広島大学東広島キャンパス
 7. 富田麗, 山口哲志, 長棟輝行 “ジスルフィド特異的 PEG 脂質化抗体の DC 免疫療法への応用” 第24回生体機能関連化学シンポジウム、第12回バイオテクノロジー部会シンポジウム、2009年9月13日、九州大学医学部キャンパス百年講堂
 8. 劉 文海, 河原正浩, 上田 宏, 長棟輝行 “厳格なフルオレセイン応答性を持つキメラ受容体の構築” 化学工学会第74年会、2009-03-18、横浜国立大学
 9. Masahiro Kawahara, Yusuke Shimo, Azusa Hitomi, Takahiro Sogo, Hiroshi Ueda, Teruyuki Nagamune “Controlling cell migration with an artificial ligand” BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会)、2008-12-11、神戸ポートアイランド
 10. Masahiro Kawahara, Yusuke Shimo, Azusa Hitomi, Takahiro Sogo, Hiroshi Ueda and Teruyuki Nagamune “Antigen-dependent migration of mammalian cells via an antibody/receptor chimera”, The 14th Symposium of Young Asian Biochemical Engineers' Community, 2008-11-30, 芝浦工業大学豊洲キャンパス
 11. Wenhai Liu, Masahiro Kawahara, Hiroshi Ueda, Teruyuki Nagamune “THE CHARACTERISTIC OF CHIMERIC RECEPTORS BASED ON ERYTHROPOIETIN RECEPTOR”, The 21st Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2008), 2008-11-26, Fukuoka, Japan
 12. Masahiro Kawahara, Toshiaki Inoue, Xianying Ren, Takahiro Sogo, Hidetoshi Yamada, Motonobu Katoh, Hiroshi Ueda, Mitsuo Oshimura, Teruyuki Nagamune “GROWTH CONTROL OF MAMMALIAN CELLS VIA A HUMAN ARTIFICIAL CHROMOSOME HARBORING A CHIMERIC RECEPTOR” The 21st Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2008)、2008-11-24、Fukuoka, Japan
 13. 河原正浩, 井上敏昭, 任鮮英, 十河孝浩, 山田秀俊, 加藤基伸, 上田 宏, 押村光雄, 長棟輝行 “人工染色体と抗体-受容体キメラを用いた動物細胞の増殖制御” 化学工学会第40回秋季大会、2008-09-24、東北大学
 14. 人見 梓, 下茂 佑輔, 十河 孝浩, 河原 正浩, 上田 宏, 長棟 輝行 “抗原応答性キメラ受容体を用いた細胞の運動制御” 化学工学会第73年会、2008-03-17、静岡大学浜松キャンパス
 15. 長棟輝行 “細胞膜修飾剤を用いた細胞治療技術の開発” 先端医療開発研究シンポジウム、2008年1月22日、東京大学安田講堂
 16. Wenhai Liu, Masahiro Kawahara, Hiroshi Ueda, Teruyuki Nagamune “The Influence of Domain and Conformation Change to the Signal Transduction of Chimeric Receptors Based on Erythropoietin Receptor” 第30回日本分子生物学会年会第80回日本生化学会大会合同大会、2007-12-11、パシフィコ横浜
 17. Nagamune, T. “The Cell Surface Engineering for Biotechnology and Cancer Therapy” APBioChEC'07, Asia Pacific Biochemical Engineering Conference, 2007-11-07, Taipei International Convention Center, Taipei, Taiwan
 18. Wenhai Liu, Masahiro Kawahara, Hiroshi Ueda, Teruyuki Nagamune “ THE INFLUENCE OF DOMAIN AND CONFORMATION CHANGE TO THE SIGNAL TRANSDUCTION OF CHIMERIC RECEPTORS BASED ON

- ERYTHROPOIETIN RECEPTOR” The 13th Symposium of Young Asian Biochemical Engineers' Community (YABEC 2007)、2007-10-21、Korea University, Seoul, Korea
19. 林 隼, 田中健人, 河原正浩, 上田宏, 長棟輝行 “キメラ受容体を用いた抗体 scFv 選択・生産一貫システムの開発” 第 59 回日本生物工学会(2007)、2007-09-27、広島大学東広島キャンパス
 20. 陳 建宏, 河原正浩, 上田 宏, 長棟輝行 “人工染色体を用いたキメラ受容体による造血幹細胞の増殖制御” 第 59 回日本生物工学会(2007)、2007 年 9 月 26 日、広島大学東広島キャンパス
 21. 十河孝浩, 河原正浩、上田 宏、長棟輝行 “キメラ IL-2 レセプター導入による遺伝子導入 T 細胞の選択的増幅法の開発” 第 59 回日本生物工学会(2007)、2007 年 9 月 25 日、広島大学東広島キャンパス
 22. Wenhai Liu, Masahiro Kawahara, Hiroshi Ueda, Teruyuki Nagamune “ THE INFLUENCE OF DOMAIN AND CONFORMATION CHANGE TO THE SIGNAL TRANSDUCTION OF CHIMERIC RECEPTORS BASED ON ERYTHROPOIETIN RECEPTOR” The 2nd International Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis、2007-09-06、Waseda University, Tokyo, Japan
 23. 十河孝浩, 河原正浩, 上田宏, 長棟輝行 “がん治療を目指したキメラ IL-2R 導入 T 細胞の選択的増幅法の開発” 化学工学会第 38 回秋季大会, 2007-09-17、福岡大学
 24. 田中 健人, 河原正浩, 上田 宏, 長棟輝行 “キメラ受容体による非血球細胞の増殖促進法” 化学工学会第 38 回秋季大会, 2007-09-17、福岡大学
 25. Takahiro Sogo, Masahiro Kawahara, Hiroshi Ueda, Teruyuki Nagamune “ Selective expansion of genetically modified T cells using a chimeric IL-2 receptor for cancer therapy” The 19th International and Annual Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT 2006), 2006 年 9 月 25-28 日、ばるるプラザ京都
 26. 十河孝浩, 河原正浩, 上田宏, 長棟輝行 “キメラ IL-2R を用いた遺伝子導入 T 細胞の選択的増幅法の開発” 化学工学会室蘭大会, 2006 年 8 月 24 日、室蘭工大
 27. 田中 健人・河原正浩・上田 宏・長棟輝行 “キメラ受容体による細胞増殖促進法の開発” 化学工学会室蘭大会, 2006 年 8 月 24 日、室蘭工大
- 他 6 件

〔図書〕 (計 7 件)

1. Liu, W., Kawahara, M., Ueda, H., and Nagamune, T. "Construction of a fluorescein-responsive chimeric receptor with strict ligand dependency and analysis of the role of erythropoietin receptor domains in signal transduction." *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects* (Ikura, K. et al., Ed.), 15, Springer, 187-193, 2009.
 2. Tanaka, K., Kawahara, M., Ueda, H., and Nagamune, T. "Promoting non-hematopoietic cell proliferation by chimeric receptors." *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects* (Ikura, K. et al., Ed.), 15, Springer, 87-93, 2009.
 3. Sogo, T., Kawahara, M., Ueda, H., and Nagamune, T. "Selective expansion of genetically modified T cells using a chimeric IL-2 receptor for cancer therapy." *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects* (Ikura, K. et al., Ed.), 15, Springer, 11-18, 2009.
 4. 長棟輝行 “細胞表面に人工分子を導入し、腫瘍免疫療法の効果向上をめざす” *メディカルバイオ(オーム社)* 5(5), 90-93, 2008.
 5. 河原正浩, 十河孝浩, 上田宏, 長棟輝行 “膜タンパク質の改変による細胞応答の制御” *高分子* 56, 828-830, 2007.
 6. 河原正浩, 上田宏, 長棟輝行 “動物細胞での抗体選択・生産一貫システムの開発” *抗体医薬の最前線* pp. 26-34, CMC出版(東京), 2007.
 7. 上田宏, 河原正浩, 長棟輝行 "細胞表面受容体工学の最近の進歩" *バイオサイエンスとインダストリー* 64, 18-23, 2006.
6. 研究組織
- (1)研究代表者
長棟 輝行 (NAGAMUNE TERUYUKI)
東京大学・大学院工学系研究科・教授
研究者番号：20124373
 - (2)研究分担者
該当なし
 - (3)連携研究者
河原 正浩 (KAWAHARA MASAHIRO)
東京大学・大学院工学系研究科・講師
研究者番号：50345097
 - 山口 哲志 (YAMAGUCHI SATOSHI)
東京大学・大学院工学系研究科・助教
研究者番号：80398106