

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2006～2009

課題番号：18255013

研究課題名（和文）

アメリカ大陸における疾患感受性を規定するウシ主要組織適合遺伝子の検出技術の実用化

研究課題名（英文）

Clinical application of diagnosis method of bovine major histocompatibility complex genes associated with resistance and susceptibility to bovine leukemia virus-induced lymphoma in South America

研究代表者

間 陽子 (Aida Yoko)

独立行政法人理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット・ユニットリーダー

研究者番号：50182994

研究成果の概要（和文）：

我々は以前に、ウシ主要組織適合遺伝子(BoLA)-DRB3 遺伝子のタイピング法(PCR-SBT)を開発して牛白血病ウイルス(BLV)誘発性牛白血病の発症に対して感受性および抵抗性を示すアレルを同定した。本研究では、南米に生育するウシ品種に適応した新規タイピング法を開発し、日本のウシを用いて同定した感受性・抵抗性アレルのアメリカ大陸(米国、アルゼンチン、ボリビア、パラグアイ、ペルー、チリ)における分布調査と BLV 感染の有無を調査した。

研究成果の概要（英文）：

We established a new sequence-based typing method for bovine major histocompatibility complex (BoLA)-DRB3 gene of cattle in South America and examined the diversity of alleles of associated with resistance and susceptibility to bovine leukemia virus-induced lymphoma in American Continent.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	10,400,000	3,120,000	13,520,000
2007 年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2008 年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
2009 年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
計	32,500,000	9,750,000	42,250,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 ・基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：ウシ MHC(BoLA)、アメリカ大陸、BoLA クラス II 対立遺伝子、PCR-STB 法、牛白血病、牛白血病ウイルス(BLV)、疾患感受性、多型性

1. 研究開始当初の背景

主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子は、細胞内で蛋白質抗原が分解されて出来た抗原ペプチドと結合し、これを T 細胞に提示する膜糖蛋白であり、クラス I とクラス II に大別される。MHC の最大の特徴は、他に類を見ない高度な多型性を持つ点であり、ここの多型は MHC 分子と結合する抗原ペプチドを変化させることから、結果として免疫応答と疾患感受性の個体差をもたらす。事実、ヒトでは自己免疫疾患を

はじめとする 100 にもおよぶ疾患と MHC との相関が報告されている。一方ウシでは乳房炎、タイレリアおよびウイルス性下痢等の発症とウシ MHC (BoLA) に相関があることが報告されているものの、タイピング法の立ち遅れから発症を規定する BoLA 遺伝子の同定には至っていないのが実情である。

そこで、申請者らは迅速かつ簡便な BoLA タイピング法の開発に取り組んだ結果、118 種類のアレルにおよぶ高度に多型性に富む

BoLA-DRB3 遺伝子のタイピング法 (PCR-SBT 法) を世界に先駆けて開発し、その方法を用いて、黒毛和種における牛白血病ウイルス (BLV) 誘発性地方病性牛白血病の発症に対して感受性および抵抗性を示すアレルの同定に成功した。

2. 研究の目的

乳牛と肉牛の生産で世界の 25~40% を占めるアメリカ大陸の主要な畜産国である、米国、アルゼンチン、ボリビア、パラグアイ、ペルーおよびチリを対象にして以下の四つの項目について検討する。①牛白血病の発症に対して抵抗性と感受性を規定する BoLA クラス II アレルを申請者らが開発した PCR-SBT 法を用いて同定する。②日本で同定されたアレルのアメリカ大陸における分布を明らかにする。③抵抗性・感受性を規定するアレルに特徴的な配列を正確に絞り込んで、その配列を利用して迅速・簡便に疾患感受性アレルを決定できるタイピング法を開発する。④開発した技術のアメリカ大陸での実用化の可能性を検討する。

以上の研究は、塩基配列を決定することによって BoLA クラス II アレルをタイピングする初めての大規模な試みである。また国内で実用化が進められてきたウシの疾患感受性と MHC との相関解析がアメリカ大陸を皮切りにして世界的規模に進展しゆく突破口となるものと確信する。

3. 研究の方法

各国のウシについて、ウシ尾部より約 1ml のヘパリン血を採取し、ワットマン FTA カードに添加し、国内に輸送した。FTA カードより DNA を精製し、BLV プロウイルスの検出および BoLA クラス II の PCR-SBT によるタイピングを行った。

表 1 アメリカ大陸のサンプリング (2006~2009 年)

国	総サンプル数	有効サンプル数	品種
ペルー	329 頭	328 頭	ホルスタイン ネローレ ブラーマン
パラグアイ	139 頭	99 頭	ホルスタイン
ボリビア	511 頭	485 頭	ホルスタイン ジル ネローレ 乳牛兼種
チリ	942 頭	942 頭	ホルスタイン オベロネグロ ジャージー オベロコロラド アンガス チリ和牛 ヘレフォード
アルゼンチン	1055 頭	964 頭	ホルスタイン
米国	100 頭	10 頭	ホルスタイン

4. 研究成果

我々の開発した PCR-SBT 法を用いて南米各国で採取したサンプルの BoLA-DRB3 タイピングを行ったところ、日本で見いだされるアレルの種類と著しく異なるアレルが多く見いだされ、PCR-SBT 法の改良が必要であることがわかった。そこで、南米のサンプルを用いてプライマーの設計およびシーケンス条件の検討を行い、より多様な品種のタイピングが可能な PCR-SBT 法の開発に成功した。

次に、改良した方法を用いて、南米各国の各品種における BLV の発症感受性および抵抗性を示す BoLA-DRB3 アレルの頻度の調査を行った。発症感受性アレル BoLA-DRB3*1601 を赤、抵抗性アレル BoLA-DRB3*0101, *1401, *0701, *0902, *2703, *1101, および*0601 を緑で示した (図 1)。特にチリ和牛および日本の和牛において疾患感受性遺伝子は高頻度に見いだされた。また、チリのジャージーやレッドアンガスでも中程度の感受性遺伝子の頻度が認められた。一方、各国のホルスタイン、オベロコロラド、オベロネグロ、ブラックアンガスなどは感受性アレル頻度は低くなっており、とくに Bos indicus に属する Zebu や Nelore, Gir などおよび日本短角種にはほとんど見いだされなかった。さらに、ボリビアの Bos indicus 種である Gir や Nelore では抵抗性遺伝子もほとんど見いだされないことが示された。

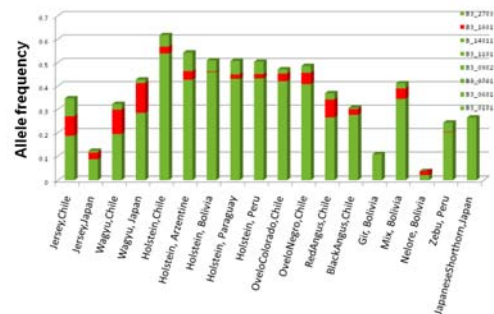


図 1 品種別の BLV 感受性アレル頻度 (赤) と BLV 抵抗性アレル頻度 (緑)

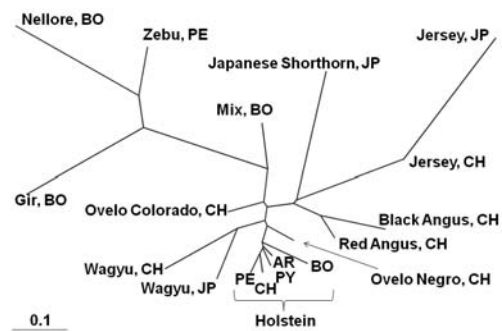


図 2 BoLA-DRB3 のアレル頻度に基づくウシ品種の系統樹

続いて、南米で収集した各品種の BoLA-DRB3 アレル頻度を用いて、品種の系統樹を作成した。

Nellore や Zebu, Gir といった *Bos indicus* に属する牛品種と *Bos taurus* の品種は明らかに別の枝を形成することが明らかとなった。さらに、ホルスタイン種は、飼育されている国が異なるにもかかわらず、非常に近いアレル頻度を有することが示された。また、チリ和牛と日本の和牛も比較的近くに位置し、DRB3 のアレル頻度は保存されていることが示された。

収集された DNA を用いてペルー、ボリビア、パラグアイ、アルゼンチン、チリにおける BLV 感染率を調査した (図 3)。ペルーでは Lima およびアマゾンに近い Pucalpa では中程度の感染率であったが、3,500m の高地である Huancayo では感染率は著しく低くかった。ボリビアでは、Yapacani および Montero といった、都市部から離れた牧場では、都市部に近い Portachuelo よりも感染率が低い傾向にあることが見いだされた。パラグアイおよびアルゼンチンでは都市部近郊においてサンプリングを行ったが、いずれも高い感染率であることが見いだされた。チリは、他の南米の各国に比べて、全体に BLV の感染率は著しく低く抑えられている傾向が認められた。しかし、一部の農場で非常に高い感染率であることが示された。

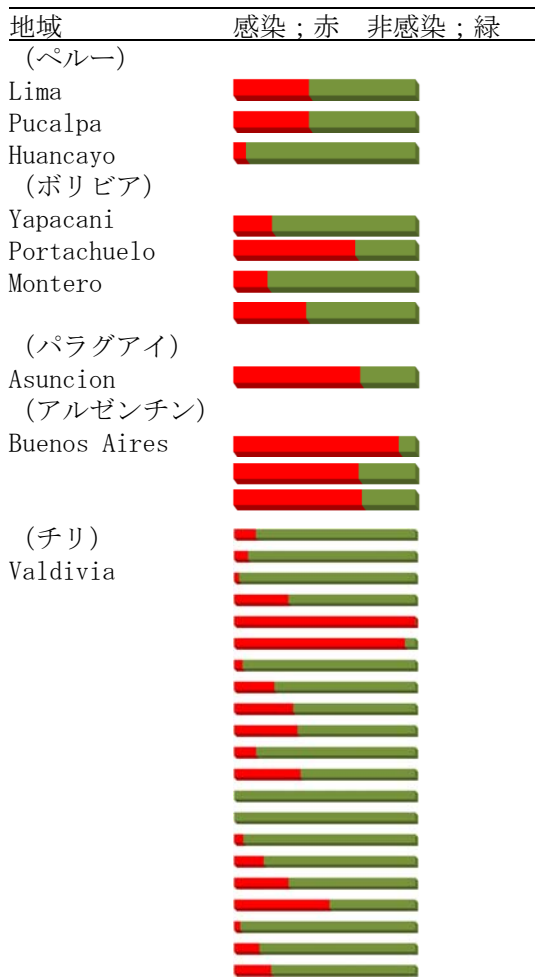


図 3 南米大陸における BLV 感染率 (牧場ごと) 各品種における BLV 感染率を調べた。チリに

おいて、ホルスタイン 51 頭、オベロネグロ 104 頭、オベロコロラド 139 頭、チリ和牛 201 頭、ジャージー 72 頭、レッドアンガス 92 頭、ブラックアンガス 83 頭およびヘレフォード 100 頭から DNA を抽出し、BLV のプロウイルスを検出した (図 4)。ジャージー、ホルスタイン、オベロコロラド、オベロネグロなどの乳用種および乳肉兼用種では、肉専用種と比較して高い感染率を示すことが明らかとなった。

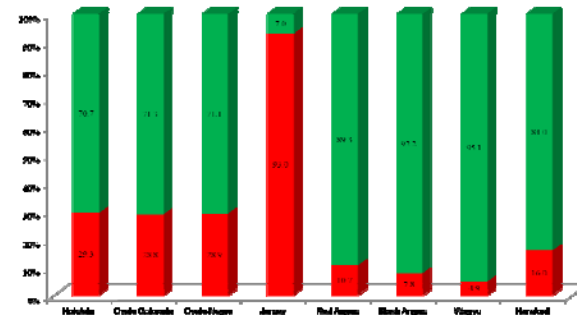


図 4 チリの主要なウシ品種別 BLV 感染率

次に、各国で流行している BLV 株についての調査を行った。BLV env 塩基配列に基づく系統樹を図 5 に示した。2007-2010 年にかけて日本で分離された株 (Fujita 1, Fujita 2, saitou1, saitou2, KHC207, nasu245) と 1990-1998 年にかけて分離された株 (KU-1, U7, pr2297) はほとんど同じ配列を有することがわかった。一方、南米で分離された株は、日本と同様のものの他、大きく塩基配列の異なるものを多数分離された。

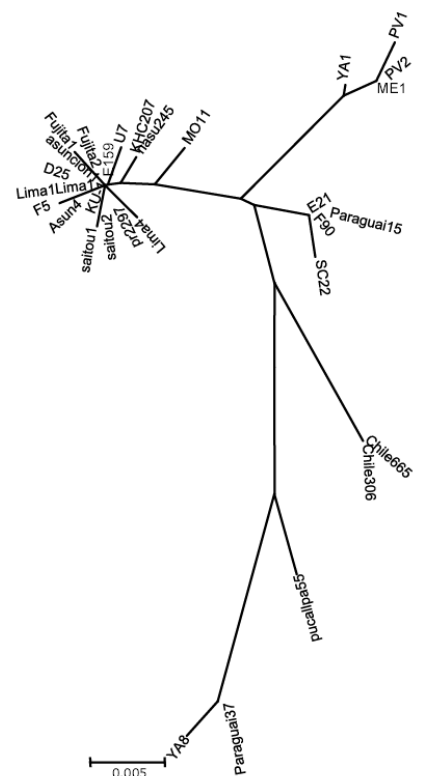


図 5 BLV env 塩基配列に基づく系統樹

図 6 はアミノ酸配列情報に基づく系統樹を示す。日本ではほぼ同じアミノ酸配列を有する

BLV 株が流行しているのに対し、南米では日本で流行しているものとは別の枝を形成する株も多く見いだされる事が判明した。この南米特異的な株はさらに別の枝を形成し、南米では多様な BLV 株が流行している可能性が示された。

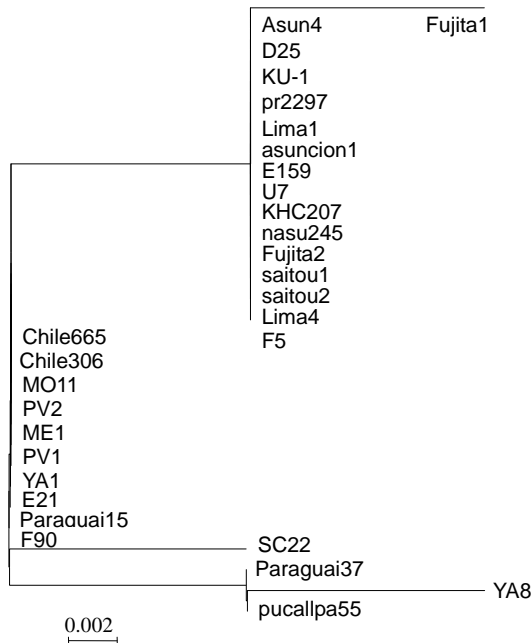


図 6 BLV Env アミノ酸配列に基づく系統樹

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 31 件)

- 1 Takeshima S., Sarai N., and Aida Y., MHC class II DR classification based on antigen-binding groove natural selection, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **385**, 137-142, (2009)、査読有
- 2 Takeshima S., Matsumoto Y., Aida Y., Establishment of a polymerase chain reaction-sequence-based typing method for genotyping cattle major histocompatibility complex class II DRB3, *J. Dairy Sci.*, **92**, 2965-2970, (2009)、査読有
- 3 Yoshida T., Mukoyama H., Furuta H., Kondo Y., Takeshima S., Aida Y., Kosugiyama M., Tomogane H., Association of the amino acid motifs of BoLA-DRB3 alleles with mastitis pathogens in Japanese Holsteincows, *Ani. Sci. J.*, **80**, 510-519, (2009) 査読有
- 4 Yoshida T., Mukoyama H., Furuta H., Kondo Y., Takeshima S., Aida Y., Kosugiyama M., Tomogane H., Association of BoLA-DRB3 alleles identified by a sequence-based typing method with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows, *Ani. Sci. J.*, **80**, 498-509, (2009)、査読有
- 5 Takeshima S. et al., Evidence for cattle major histocompatibility complex (BoLA) class II DQA1 gene heterozygote advantage against clinical mastitis caused by *Streptococci* and *Escherichia species.*, *Tissue Antigens*, **72**, 525-531, (2008)、査読有
- 6 Takeshima S., Distribution and origin of bovine major histocompatibility complex class II DQA1 genes in Japan, *Tissue Antigens*, **72**, 195-205, (2008)、査読有
- 7 間陽子, MHCをマーカーにした牛白血病抵抗性牛作出に向けた育種戦略、第14回動物遺伝育種シンポジウム/プロシーディング、9-19, (2008)、査読無
- 8 Takeshima S., Chen J., Sato M., and Aida Y.: Relationship Between Polymorphism of BoLA Class IIa Region and Resistance for Development of Bovine Leukemia Virus (BLV)-induced Lymphoma, *AIDS Resesch and Human Retroviruses*, **624**, (2007)、査読有
- 9 Aida Y. and Inabe K.: Syncytium-forming Ability and Expression on the Cell Surface of Bovine Leukemia Virus Envelope Glycoprotein Are Regulated by YXXL Motif of Transmembrane subunit, *AIDS Resesch and Human Retroviruses*, **647**, (2007)、査読有
- 10 Takeshima S. Establishment of a sequence-based typing system for BoLA-DQA1 exon 2, *Tissue Antigens*, **69**, 189-199, (2007)、査読有
- 11 Aida Y., Syncytium-forming ability and expression on the cell surface of bovine leukemia virus envelope glycoprotein are regulated by the YXXL motif of the transmembrane subunit, *AIDS Research and Human Retroviruses*, **23**, 647, (2007)、査読有
- 12 Takeshima S. Relationship Between Polymorphism of BoLA Class IIa Region and Resistance for Development of Bovine Leukemia Virus (BLV)-Induced Lymphoma, *AIDS Research and Human Retroviruses*, **23**, 624, (2007)、査読有
- 13 竹嶋伸之輔、ウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA) 領域の多様性と抗病性、動物遺伝育種研究会誌、**35**, 51-64, (2007)、査読有
- 14 竹嶋伸之輔、ウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA) と疾患感受性、アニテックス、**19**, 18-26, (2007)、査読有
- 15 間陽子、白血病と乳房炎感受性と牛MHCの遺伝的多様性、獣医畜産新報、**60**, 925-927, (2007)、査読有
- 16 竹嶋伸之輔、ウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA) の構造・機能・進化と疾患感受性、日本組織適合性学会誌、**14**, 9-22, (2007)、査読有
- 17 Takeshima S., and Aida Y. "Structure, function, and disease susceptibility of the bovine major histocompatibility complex", *Animal Science J.*, **77**:138-250, (2006)、査読有

[学会発表] (計 53 件)

- 1 神馬繭子、竹嶋伸之輔、松本有生、宮坂卓、的場和弘、遠藤大二、間陽子、縮合プライマーを用いたリアルタイム定量PCR法による牛白血病プロウイルス量とウイルス力価及びBLV感染牛の病態進行との相関解析、第149回日本獣医学会、2010.3.26-28、東京
- 2 宮坂卓、竹嶋伸之輔、松本有生、神馬繭子、松橋珠子、小林直彦、泉對博、間陽子、ウシ 主要組織適合抗原(MHC)クラスII遺伝子のハロタイプの解析、第149回日本獣医学会、2010.3.26-28、東京
- 3 間陽子、牛白血病の世界における感染拡大の現状、第149回日本獣医学会、2010.3.26-28、東京
- 4 間陽子、MHCをマーカーにした牛白血病育種戦略、平成21年度日本獣医師会学会年次大会、2010.1.22、宮崎
- 5 間陽子、竹嶋伸之輔、REACION ENTRE BoLA(Antigenos Linfocitarios Bovino)EINF ECCION DE LEUCOSIS BOVINA、2009. 11. 27、チリ・バルディビア
- 6 神馬繭子、竹嶋伸之輔、宮坂卓、松本有生、Araingaramirez M.、的場和弘、遠藤大二、間陽子、多様な牛白血病ウイルス(BLV)に適用可能な縮合プライマーを用いたBLV定量法の確立、第57回日本ウイルス学会学術集会、2009. 10. 25-27、東京
- 7 竹嶋伸之輔、松本有生、陳晶、吉田達行、向山明孝、間陽子、環境生乳房炎に抵抗性を付与するウシ主要組織適合抗原クラスII、獣医臨床遺伝研究会・第18回年会、2009.10.17-18、山形
- 8 竹嶋伸之輔、陳晶、三木晶未、加堂真由、間陽子、ウシの種分化および品種形成におけるMHCクラスII DQA 1 遺伝子の多様性解析、第18回日本組織適合性学会2009.9.25-27、名古屋
- 9 神馬繭子、竹嶋伸之輔、松本有生、的場和弘、遠藤大二、間陽子、縮合プライマーを用いた牛白血病ウイルス(BLV)プロウイルス定量によるBLV 感染牛の病態進行の解析、第2回HTLV-1研究会、2009. 8. 29-30、東京
- 16 竹嶋伸之輔、間陽子、反芻動物のMHCと疾患、第147回日本獣医学会学術集会、2009. 4. 2~4、宇都宮
- 27 宮坂卓、竹嶋伸之輔、神馬繭子、松本有生、小林直彦、松橋珠子、泉對博、間陽子、牛白血病ウイルスロードとMHCクラスII遺伝子の相関性、第147回日本獣医学会学術集会、2009. 4. 2~4、宇都宮
- 10 28 神馬繭子、竹嶋伸之輔、遠藤大二、宮坂卓、的場和弘、間陽子、牛白血病プロウイルス定量用縮合プライマーを用いたリアルタイム定量PCR法の構築とその応用、第147回日本獣医学会学術集会、2009. 4. 2~4、宇都宮
- 11 間陽子、ウシMHC解析の現状と家畜改良におけるMHCの有効性、東京農業大学先端研究プロジェクトAシンポジウム「遺伝子発現機構に基づく新たな家畜改良に関する研究」：第2回シンポジウム、2009. 3、東京
- 12 間陽子、牛白血病ウイルスによる白血病発症機構の解明とその制御方法、平成20年度産業動物獣医講習会、2009. 2. 20、大分
- 13 神馬繭子、竹嶋伸之輔、遠藤大二、宮坂卓、小林直彦、松橋珠子、的場和弘、間陽子、牛白血病ウイルス感染細胞数の縮合プライマーを用いたリアルタイム定量 PCRによる解析、第9回日本遺伝育種学会、2008. 11. 29、岡山
- 14 宮坂卓、竹嶋伸之輔、神馬繭子、小林直彦、松橋珠子、間陽子、ウシ白血病ウイルス(BLV)感染を制御するMHCクラスIIアレルの同定、第9回日本遺伝育種学会 2008. 11. 29、岡山
- 15 藤田 達男、渡邊 直人、佐藤 文明、井上一之、赤峰 正雄、竹嶋伸之輔、松本 有生、間陽子、三宅 武、白血病発症抵抗性遺伝子型 (BoLAクラスII・DRB3アレル) を指標とした大分県黒毛和種育種集団の実態調査および育種改良への活用、第9回日本遺伝育種学会、2008. 11. 29、岡山
- 16 竹嶋伸之輔、松本有生、陳晶、吉田達行、向山明孝、間陽子、主要組織適合遺伝子クラスIIのヘテロ接合性と乳房炎発症抑制効果、第9回日本遺伝育種学会、2008. 11. 29、岡山
- 17 竹嶋伸之輔、松本有生、陳晶、吉田達行、向山明孝、間陽子、ヘテロ接合による乳房炎発症抑制効果および疾患感受性アレルの同定、第18回日本組織適合性学会2008.9. 19- 21、名古屋
- 18 神馬繭子、竹嶋伸之輔、遠藤大二、松本有生、宮坂卓、的場和弘、齊藤恵津子、小林直彦、間陽子、縮合プライマーを用いたリアルタイム定量PCRによる牛白血病ウイルス感染細胞数の絶対定量法の開発、第1回HTLV-1研究会、2008. 8. 23、東京
- 19 Takeshima S., Matsumoto Y., Chen S., Yoshida T., Mukoyama H., and Aida Y., Evidence for cattle major histocompatibility complex (BoLA) class II DQA1 gene heterozygote advantage against clinical mastitis caused by Streptococcus and Escherichia species, XXXI International Society For Animal Genetics, 2008. 7. 20-24, The Netherlands
- 20 竹嶋伸之輔、吉田達行、松本有生、陳晶、向山明孝、小沼操、間陽子、乳房炎発症とウシ主要組織適合遺伝子(BoLA)クラスII遺伝子、第145回日本獣医学会学術集会、2008. 3. 28、神奈川

- 21 竹嶋伸之輔、松本有生、陳晶、神馬繭子、間陽子、ウシ主要組織適合遺伝子 (BoLA) -DQA1 遺伝子の新規タイピング法の開発と世界各国におけるDQA1 遺伝子の分布調査、日本動物遺伝育種学会第8回大会、2007. 11. 24、日本・茨城
- 14 神馬繭子、竹嶋伸之輔、間陽子、腫瘍壊死因子 (TNF) -alpha のプロモーター領域の多型と牛白血病との相関解析、日本動物遺伝育種学会第8回大会、2007. 11. 24、茨城
- 22 15 松本有生、竹嶋伸之輔、佐藤正明、間陽子、ウシ主要組織適合遺伝子 (BoLA) -DRB3 のPCR-SBT法の改良、日本動物遺伝育種学会第8回大会、2007. 11. 24、茨城
- 23 Aida Y. and Inabe K., Syncytium-forming Ability and Expression on the Cell Surface of Bovine Leukemia Virus Envelope Glycoprotein Are Regulated by YXXL Motif of Transmembrane Subunit、13th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses、2007. 5. 24、神奈川
- 10 Takagi M., Tajima S., Ohashi K., Onuma M., Okada K., and Aida Y., Expression of apoptosis-associated genes and NK receptor gene in peripheral blood mononuclear cells of sheep infected with bovine leukemia virus、13th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses、2007. 5. 24、神奈川
- 11 Takeshima S., Chen Jing., Sata M., and Aida Y., Relationship between polymorphism of BoLA class IIa region and resistance for development of bovine leukemia virus (BLV)-induced lymphoma、13th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses、2007. 5. 22、神奈川
- 12 間陽子、竹嶋伸之輔、白血病および乳房炎感受性とウシMHCの遺伝的多様性、第143回日本獣医学会学術集会、2007. 4. 5、茨城
- 24 中島真知子、竹嶋伸之輔、加藤美緒、間陽子：“ウシTAP遺伝子の単離と性状解析”日本遺伝育種学会大7回大会、2006.11、鹿児島
- 25 佐藤正明、竹嶋伸之輔、間陽子：“ウシ白血病ウイルス (BLV) の白血病発症に抵抗性と感受のBoLA-DRB3 アリルが提示するBLVエピトープの検索”、日本ウイルス学会第54回学術集会、2006.11、名古屋
- 26 間陽子、陳晶、竹嶋伸之輔：“ウシMHC(BoLA)-DQA1 遺伝子の品種間の多様性の解析”、第15回日本組織適合性学会大会2006.9、日本・東京
- 27 竹嶋伸之輔、皿井明倫、斉藤成也、間陽子：“哺乳類における主要組織適合抗原 (MHC) クラス II DR分子の進化的解析”、第15回日本組織適合性学会大会、2006.9、東京
- 28 谷洋之、若本裕晶、加地紀之、池上良、間陽子：“牛白血病抗体検査ELISAキットの開発”、第142回日本獣医学会学術集会2006.9、山口
- 29 Takeshima S., Jing C., and Aida Y.: Polymorphism and diversity of cattle major histocompatibility complex class II *DQA1* gene in four major breed of Japan, 30th International Conference on Animal Genetics, 2006.8.20-25、Porto Seguro, Brazil.
- 30 Aida Y., Jing C., and Takeshima S.: Relationship between polymorphism of BoLA class IIa region and susceptibility or resistance for development of mastitis and bovine leukemia virus (BLV)-induced lymphoma, 30th International Conference on Animal Genetics, 2006.8.20-25、Porto Seguro, Brazil
- 31 間陽子：“牛の白血病について”、平成18年度兵庫県食肉衛生検査員業務研修会プログラム、2006.7、神戸

〔産業財産権〕

○取得状況 (計1件)

名称：ウシ乳房炎の発症抵抗性と感受性の判定方法

発明者：間陽子、陳晶、竹嶋伸之輔

権利者：独立行政法人理化学研究所

種類：特願

番号：2006-12655号

出願年月日：平成18年4月28日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.riken.jp/lab/virus/animalMHC.htm>

<http://www.riken.jp/r-world/research/lab/spunit/viral/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

間陽子 (Aida Yoko)

独立行政法人理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット・ユニットリーダー

研究者番号：50182994

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

竹嶋伸之輔 (Takeshima Shin-nosuke)

独立行政法人理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット・協力研究員

研究者番号：60342812

小沼操 (Onuma Misao)

北海道大学・獣医学部・名誉教授

研究者番号：70109510