

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007-2008

課題番号：19591122

研究課題名（和文） HTLV-I 感染による M 期チェックポイント異常と ATL 治療への応用

研究課題名（英文） Dysregulation of mitotic checkpoint by infection with HTLV-I

研究代表者

富田 真理子 (TOMITA MARIKO)

国立大学法人 琉球大学・医学研究科・助教

研究者番号：80381250

研究成果の概要：ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) 感染細胞における細胞分裂期 (M 期) チェックポイント異常の分子機構を解明し，成人 T 細胞白血病 (ATL) 治療の標的となるかを明らかにすることを目的とし本研究を行った。我々は，HTLV-I 感染 T 細胞株や ATL 細胞において，M 期チェックポイント遺伝子の一つである CHFR の発現が異常メチル化により抑制され，これにより細胞の異常増殖がもたらされることを明らかにした。この分子機構を CHFR のユビキチン化標的蛋白質である Aurora A に焦点を当てて解析した結果，CHFR 発現抑制により HTLV-I 感染 T 細胞では Aurora A が高発現していること，さらに，siRNA による Aurora A のノックダウンもしくは Aurora キナーゼ阻害剤処理により，HTLV-I 感染 T 細胞の増殖・生存を阻害した。以上の結果より，CHFR および Aurora A は ATL 治療の標的となりうることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
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・血液内科学

キーワード：ウイルス，癌，感染症，シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) は，ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (human T-cell leukemia virus type I: HTLV-I) 感染を原因とする難治性のリンパ系腫瘍である。国内のキャリアは約 120 万人と推定されており，年間約 700 人の ATL 患者が発生している。一方，ATL を発症すると，その化学療法成績は極めて不良で，ATL の増殖機構に基づいた新規治療法の開発が求められている。

細胞分裂期 (M 期) チェックポイントは染色体の異数体化を防ぐセンサーの役割を果たしている。M 期チェックポイント遺伝子の異常は染色体不安定性をもたらすため，細胞の癌化において重要な変化と考えられている。一方，現在抗癌剤として広く使用されている微小管阻害剤は，M 期細胞における紡錘体微小管の形成を阻害することにより M 期チェックポイントを活性化し，細胞を M 期に停止させる。これらの抗癌剤は癌細胞の M 期チェックポイント異常を利用して選択的に癌にアポ

トーシスを引き起こすことが明らかにされてきた。このことから、M期チェックポイントの異常の有無が抗癌剤に対する感受性を予測するマーカーとなりうることが示唆される。しかし、アポトーシスの過程や感受性を決定する分子などその詳細については不明な点が多い。

最近、CHFR (checkpoint with FHA and RING domains) が新たなM期チェックポイント遺伝子として同定された。CHFR蛋白質は微小管阻害剤処理に反応して染色体の凝縮や核膜の崩壊を遅延させ、細胞分裂前期から前中期への進行を遅らせる。CHFR蛋白質の中央部にあるリングフィンガードメインはE3ユビキチンリガーゼ活性を持ち、M期進行を促進するAurora AやPlk1 (polo-like kinase 1) 蛋白質をユビキチン化して分解することで細胞分裂前中期への進入を阻止する。また、CHFRはM期サイクリンであるサイクリンB1の核移行を阻害することも報告されている。大腸癌や胃癌など多くのヒト癌細胞株や癌組織においてCHFR遺伝子プロモーター領域の異常メチル化や遺伝子変異によりCHFR遺伝子発現が抑制されており、CHFRによるM期チェックポイント異常と癌化との関連が示唆されている。しかし、白血病やリンパ腫におけるCHFR遺伝子発現を検討した報告はなく、CHFR発現の有無と抗癌剤感受性の関連は明らかでない。

ATL細胞やHTLV-I感染T細胞株では染色体の異数体化が高頻度に認められるにもかかわらず、M期チェックポイント遺伝子変異などの異常はほとんど認められていない。HTLV-Iのトランスフォーミング蛋白質Taxを細胞に導入すると染色体異数体化を引き起こす。これはTaxがM期チェックポイント蛋白質Mad1に結合してMad1のホモダイマー形成を阻害することでM期チェックポイント機能を阻害するためである。実際、HTLV-I感染細胞株では微小管阻害剤処理によるM期での細胞周期停止がおこりにくいことが報告されている。一方で、Taxを過剰発現させたHeLa細胞やTaxを発現しているHTLV-I感染T細胞株MT-4は微小管阻害剤処理によって細胞周期がM期で停止するとの報告もあり、HTLV-I感染細胞の微小管阻害剤に対する感受性やTaxの関与については、未だ不明な点が多い。また、Taxを発現していないATL細胞やATL患者由来の細胞株での検討は行われていないため、Tax非依存性のM期チェックポイント異常についても不明である。

2. 研究の目的

本研究ではCHFRおよびそのユビキチン化標的分子Aurora Aに着目してHTLV-I感染細胞におけるM期チェックポイント異常の分子機構を解明し、M期チェックポイント遺伝子を標的とした新規ATL治療法を開発すること

を目的とする。

3. 研究の方法

(1) HTLV-I感染細胞におけるCHFR発現解析：HTLV-I感染T細胞株 (Tax発現および非発現細胞株)、非感染T細胞株、ATL細胞および健常人末梢血単核球におけるTaxおよびCHFR発現をmRNA発現はRT-PCR法で、蛋白質発現はウェスタンブロット法で解析し、CHFR発現抑制がHTLV-I感染およびTax発現と相関するか検討する。

(2) CHFR発現抑制機構の解析：

CHFR遺伝子プロモーター領域の異常メチル化のCHFR遺伝子発現抑制への関与を解析する。

①COBRA法 (combined bisulfite restriction assay) によるメチル化解析：細胞から抽出したゲノムDNAを亜硫酸水素塩処理した後、PCR法で増幅しメチル化特異的制限酵素による切断パターンによりCHFR遺伝子プロモーター領域のメチル化状態を解析する。

②シーケンス法によりCHFR遺伝子プロモーター領域のメチル化頻度を解析する。

③脱メチル化によるCHFR発現回復の確認：細胞を脱メチル化剤5-aza-2'-deoxycytidineで3日間培養後、RNAを抽出しCHFR発現をRT-PCR法で解析して脱メチル化によるCHFR発現の回復を確認する。同時に抽出したゲノムDNAを用いてCOBRA法でCHFR遺伝子プロモーター領域の脱メチル化を確認する。

(3) CHFR発現抑制がHTLV-I感染細胞の生存・増殖に及ぼす影響とその分子機構の解析：CHFR発現抑制を認めるHTLV-I感染細胞株HUT-102にCHFR発現プラスミドを導入して、CHFR発現を回復させた細胞を用いて以下の検討を行なう。

①経時的にトリパンブルー染色により生細胞数を測定して、CHFRがHTLV-I感染細胞の増殖に及ぼす影響を検討する。

②CHFRがNF- κ B活性に及ぼす影響：CHFR導入HUT-102細胞から核抽出液を調整しNF- κ B結合配列を持つDNAをプローブとしたゲルシフトアッセイを行い、NF- κ BのDNA結合能へのCHFRの関与を検討する。さらに、HUT-102細胞にNF- κ BレポータープラスミドとCHFR発現プラスミドを同時に導入しレポーターアッセイにてCHFRがNF- κ Bの転写活性化に及ぼす影響を検討する。さらに、TaxによるNF- κ B活性化へのCHFRの関与についてもJurkat細胞を用いたレポーターアッセイで検討する。

(4) CHFR発現抑制によるAurora Aの蓄積と活性化の検討：(1)で用いた細胞を用いてCHFRのユビキチン化標的蛋白質であるAurora Aの

発現をRT-PCR法およびウェスタンブロット法で検討し、CHFR発現抑制との相関を解析する。

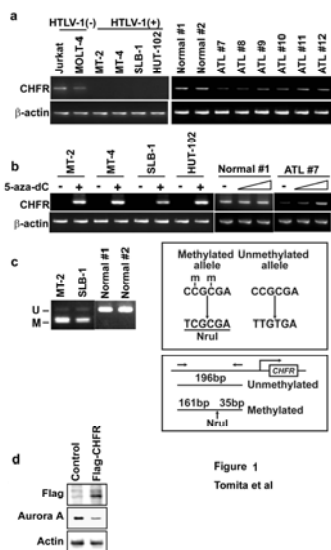
(5) **Aurora A阻害効果の検討**：HTLV-I感染T細胞株におけるAurora A発現をsiRNAでノックダウンし、細胞増殖・アポトーシス誘導に及ぼす影響をそれぞれトリパンブルー染色・アネキシンV、PI染色法で検討する。また、細胞質分裂阻害によるDNA量の増加をフローサイトメーターで測定してAurora A阻害効果を解析する。

(6) **Auroraキナーゼ阻害剤の効果**：癌に対する分子標的治療薬として多数のAuroraキナーゼ阻害剤が開発されてきている。その中のいくつかは動物実験で抗腫瘍効果が認められ、昨年よりアメリカで臨床治験が開始された。そこで、Auroraキナーゼ阻害剤(4-(4'-Benzamidoanilino)-6,7-dimethoxyquinazoline)の抗ATL効果をHTLV-I感染T細胞株およびATL細胞を用いて、(5)と同様の方法で検討する。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

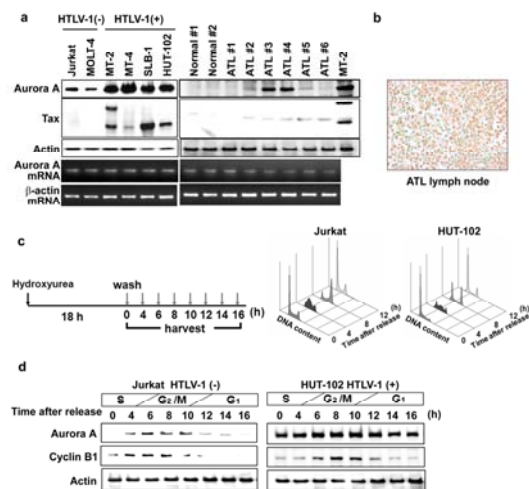
① HTLV-I感染T細胞株およびATL細胞におけるCHFR遺伝子発現：HTLV-I感染T細胞株(MT-2, MT-4, SLB-1, および HUT-102), 非感染T細胞株(Jurkat および MOLT-4), ATL患者および健常人末梢血単核球におけるCHFR発現をRT-PCR法で解析したところ、HTLV-I非感染T細胞株に比べ感染T細胞株でCHFR発現が減弱していた。ATL患者末梢血単核球においても健常人に比べCHFR発現が減弱していた(図1a)。



② CHFR遺伝子プロモーター領域の異常メチル化とCHFR遺伝子発現抑制への関与：

HTLV-I感染T細胞を脱メチル化剤5-Aza-dCで処理したところ、HTLV-I感染T細胞株におけるCHFR発現が回復した。同様に、ATL患者末梢血単核球を5-Aza-dCで処理すると濃度依存性にCHFR発現の回復が見られたが、健常人では発現に変化を認めなかった(図1b)。さらに、HTLV-I感染T細胞株MT-2およびSLB-1のCHFR遺伝子プロモーター領域のメチル化をCOBRA法で検出したところ、健常人末梢血単核球に比べ高頻度にメチル化が認められた(図1c)。これらの結果から、HTLV-I感染T細胞株におけるCHFR遺伝子発現の抑制はプロモーター領域の異常メチル化によると考えられた。

③ HTLV-I感染T細胞株およびATL細胞におけるCHFRによるユビキチン化の標的蛋白質Aurora Aの発現：CHFRによるユビキチン化の基質の一つであるAurora Aの発現をウェスタンブロット法で解析したところ、HTLV-I感染T細胞株では非感染T細胞に比べAurora A蛋白質が高発現している傾向が認められた。ATL患者末梢血単核球においても健常人に比べ過剰発現している症例が認められた(図2a)。また、免疫組織化学染色にてATL患者のリンパ節における腫瘍細胞にもAurora Aの過剰発現が確認された(図2b)。Aurora A発現はmRNAレベルでは差がなく、翻訳もしくは翻訳後のレベルでの調節によると考えられた。さらに、hydroxyurea処理により細胞周期をS期に同調させ細胞周期依存性のAurora A発現調節を調べたところ、HTLV-I感染T細胞HUT-102では、非感染T細胞株Jurkatで見られるG2/M期特異的な発現誘導は認められず、細胞周期にかかわらず高発現していた(図2d)。



④ HTLV-I感染T細胞株の増殖に及ぼすCHFR発現抑制およびAurora A発現亢進の影響：

HTLV-I 感染 T 細胞株 HUT-102 に CHFR 発現プラスミドを導入したところ Aurora A 蛋白質の発現が減弱し (図 1d), 細胞増殖も抑制された (図 3a). Aurora A の発現を siRNA でノックダウンしても同様に細胞増殖が抑制された. 一方, HTLV-I 非感染 T 細胞株 Jurkat では CHFR の強制発現および Aurora A のノックダウンの効果は HUT-102 に比べ弱かった (図 3a). これらの結果から, CHFR 発現抑制による Aurora A 発現亢進は HTLV-I 感染 T 細胞の増殖を促進していることが明らかになった.

⑤ HTLV-I 感染 T 細胞株における NF- κ B シグナル伝達経路の活性化における CHFR および Aurora A の役割: HTLV-I 感染細胞の増殖や生存には NF- κ B シグナル伝達経路の恒常的活性化が重要な役割を果たしている. また, HTLV-I のトランスフォーミング蛋白質 Tax は転写因子 NF- κ B を活性化することで感染初期の細胞増殖・不死化を誘導する. HTLV-I 感染 T 細胞株 HUT-102 の Aurora A 発現をノックダウンすると IKK β (Inhibitor of kappa B kinase β) のリン酸化を抑制した (図 3b). さらに, NF- κ B 活性をレポーターアッセイで検討したところ, Aurora A は Tax 依存性の NF- κ B 活性化をさらに亢進させたが, キナーゼ活性を持たない Aurora A の変異体 (Kinase Dead: KD) では亢進されなかった (図 3c). HTLV-I 感染細胞株 HUT-102 に CHFR 発現プラスミドを導入すると NF- κ B 活性が減弱し, Aurora A をノックダウンしても同様に減弱した (図 3d). これらの結果から, CHFR 発現抑制による Aurora A 発現亢進は HTLV-I 感染 T 細胞の NF- κ B 活性化を亢進させることで細胞増殖を促進している可能性が示唆された.

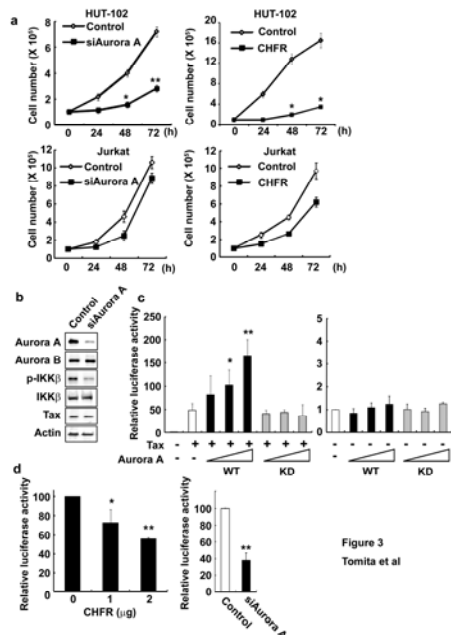


Figure 3
Tomita et al

⑥ HTLV-I 感染 T 細胞株および ATL 細胞の増殖に及ぼす Aurora キナーゼ阻害剤の効果:

HTLV-I 感染 T 細胞株 HUT-102 を Aurora キナーゼ阻害剤 (Aurora kinase inhibitor: AKI) で処理したところ細胞数の減少が見られ, これはアポトーシス誘導によるものであった. 一方, 非感染 T 細胞株 Jurkat では細胞の増殖は抑えられるものの, アポトーシス誘導はほとんど認められなかった (図 4a-d). また, AKI は ATL 細胞の生存率を減少させたが, 健康人末梢血単核球には影響を及ぼさなかった (図 4a).

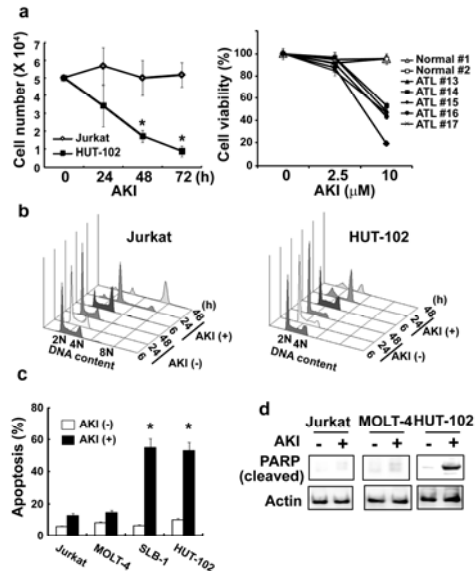


Figure 4
Tomita et al

(2) 考察と今後の展望

今回の研究結果から HTLV-I 感染 T 細胞株および ATL 細胞では CHFR 遺伝子プロモーターの異常メチル化によりその発現が抑制され, これによりユビキチン化の標的蛋白質である Aurora A の分解が抑制されて蓄積し, Tax による IKK β のリン酸化を促進することで NF- κ B シグナル伝達経路を活性化して細胞増殖や生存を促進していると考えられた. 現在, ATL に対する治療は悪性リンパ腫に対する化学療法である CHOP 療法を中心に行われているが, その治療成績は極めて不良である. 最近の研究で Aurora キナーゼ阻害剤が大腸癌や乳癌などに対し抗腫瘍効果があることが報告されており, これまでに, 多くの Aurora キナーゼ阻害剤が開発され臨床試験が行われている. 本研究は, ATL 細胞において Aurora キナーゼが治療の標的となることを明らかにしたとともに Aurora キナーゼ阻害剤を ATL 治療に使用する根拠ともなる. 今後, Aurora キナーゼ阻害剤の癌に対する臨床応用が開始されれば, これを用いることで ATL の治療効果や予後を改善することが期待される.

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 12 件)

1. Tomita, M. *et al.* (他 4 人) Overexpression of aurora A by loss of CHFR gene expression increases the growth and survival of HTLV-1-infected T cells through enhanced NF- κ B activity. *Int. J. Cancer*, 査読有り, 124, 2009, 2607-2615.
2. Tomita, M. *et al.* (他 14 人) Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 activates β -catenin signaling in B lymphocytes. *Cancer Sci.*, 査読有り, 100, 2009, 807-812.
3. Dewan, M. Z., Tomita, M. *et al.* (他 7 人) An HIV protease inhibitor, ritonavir targets the nuclear factor- κ B and inhibits the tumor growth and infiltration of EBV-positive lymphoblastoid B cells. *Int. J. Cancer*, 査読有り, 124, 2009, 622-629.
4. Takeshima, E. *et al.* (他 11 人, 6 番目) NF- κ B activation by *Helicobacter pylori* requires Akt-mediated phosphorylation of p65. *BMC Microbiol.* 査読有り, 9, 2009, 36.
5. Teruya, H. *et al.* (他 10 人, 2 番目) Human T-cell leukemia virus type I can infect human lung epithelial cells and induce gene expression of cytokines, chemokines and cell adhesion molecules. *Retrovirology*, 査読有り, 5, 2008, 86.
6. Ishikawa, C. *et al.* (他 13 人, 5 番目) Anti-adulti T-cell leukemia effects of brown algae fucoxantin and its deacetylated product, fucoxanthinol. *Int. J. Cancer*, 査読有り, 123, 2008, 2702-2712.
7. Nakazato, T. *et al.* (他 12 人, 6 番目) Anti-adult T-cell leukemia effects of a novel synthetic retinoid, Am80 (Tamibarotene). *Cancer Sci.* 査読有り, 99, 2008, 2286-2294.
8. Tomita, M. *et al.* (他 9 人) Activation of hypoxia-inducible factor 1 in human T-cell leukemia virus type 1-infected cell lines and primary adult T-cell leukemia cells. *Biochem. J.*, 査読有り, 406, 2007, 317-323.
9. Sawada, S *et al.*, (他 10 人, 3 番目), Downregulation of citrin, a mitochondrial aspartate glutamate carrier, is associated with apoptosis of hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 査読有り, 2007, 364, 937-944.
10. Okudaira, T. *et al.* (他 11 人, 5 番目), A modified version of galectin-9

suppresses cell growth and induces apoptosis of human T-cell leukemia virus type I-infected T-cell lines. *Int. J. Cancer*, 査読有り, 2007, 120, 2251-2261.

11. Ishikawa, C. *et al.* (他 9 人, 4 番目), Bisphosphonate incadronate inhibits growth of human T-cell leukaemia virus type I-infected T-cell lines and primary adult T-cell leukaemia cells by interfering with the mevalonate pathway. *Br. J. Haematol.* 査読有り, 2007, 136, 424-432.
12. Kawakami, H., *et al.* (他 9 人, 2 番目), Inhibition of heat shock protein-90 modulates multiple functions required for survival of human T-cell leukemia virus type I-infected T-cell lines and adult T-cell leukemia cells. *Int. J. Cancer*. 査読有り, 2007, 120, 1811-1820.

[学会発表] (計 23 件)

1. Tomita, M., HTLV-1 transforming protein Tax induces cellular microRNA miR-146a through NF- κ B signaling pathway. Hong Kong Cancer Institute/AACR International Conference, 2008年12月5日, 中国, 香港, 香港医学アカデミー.
2. Tomita, M., The role of ARK5 on survival of HTLV-1-infected T cells against glucose deprivation. 第 67 回日本癌学会学術総会, 2008年10月29日, 愛知県, 名古屋市, 名古屋国際会議場.
3. Sawada, S. Expression of caveolin-1 in HTLV-1-infected T-cell lines and primary ATL cells. 第 67 回日本癌学会学術総会, 2008年10月29日, 愛知県, 名古屋市, 名古屋国際会議場
4. 澤田茂樹, 成人 T 細胞白血病におけるカベオリン-1 の発現異常, 第 56 回日本ウイルス学会学術集会, 2008年10月28日, 岡山県, 岡山市, 岡山コンベンションセンター.
5. 丹治弘江, 成人 T 細胞白血病における Twist の発現異常, 第 56 回日本ウイルス学会学術集会, 2008年10月28日, 岡山県, 岡山市, 岡山コンベンションセンター.
6. 富田真理子, HTLV-1 感染 T 細胞の生存における ARK5 の役割. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会, 2008年10月26日, 岡山県, 岡山市, 岡山コンベンションセンター
7. 森 直樹, HTLV-1 感染 T 細胞の新規生存シグナル分子: ARK5, 第 70 回日本血液学会総会, 2008年10月10日, 京都府, 京都市, 国立京都国際会館.
8. 澤田茂樹, 成人 T 細胞白血病におけるカベオリン-1 の発現異常, 第 45 回日本ウイルス学会九州支部総会, 2008年10月3日, 熊本県, 熊本市, 熊本大学医学部附属病院,

山崎記念会館

9. 丹治弘江, 成人 T 細胞白血病における Twist の発現異常, 第 45 回日本ウイルス学会九州支部総会, 2008 年 10 月 3 日, 熊本県, 熊本市, 熊本大学医学部附属病院, 山崎記念会館

10. Tomita, M., Overexpression and activation of hypoxia-inducible factor 1 through PI3K/Akt signaling pathway in human T-cell leukaemia virus typr 1-infected T cells. 20th Meeting of the European Association for Cancer Research, 2008 年 7 月 6 日, フランス, リヨン, Cité Centre de Congrès.

11. Tomita, M., ARK5 regulates the growth of HTLV-1-infected T cells during glucose starvation. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research 2008, 2008 年 4 月 13 日, アメリカ, サンディエゴ, コンベンションセンター

12. 富田真理子, 成人 T 細胞白血病における Chfr および Aurora A の役割. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会, 2007 年 10 月 22 日, 北海道, 札幌市, 札幌コンベンションセンター.

13. 町島由章, インドール 3 カルビノールによる成人 T 細胞白血病治療の可能性, 第 55 回日本ウイルス学会学術集会, 2007 年 10 月 23 日, 北海道, 札幌市, 札幌コンベンションセンター.

14. 森 直樹, ATL における M 期チェックポイント遺伝子 CHFR と Aurora キナーゼの発現制御異常, 第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会, 2007 年 10 月 11 日, 神奈川県, 横浜市, パシフィコ横浜.

15. Tomita, M., Dysregulation of mitotic checkpoint proteins Chfr and Aurora kinase in HTLV-1-infected T cells. 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007 年 10 月 4 日, 神奈川県, 横浜市, パシフィコ横浜.

16. Nakama, S, Bidens pilosa induces apoptosis of HTLV-1-infected T-cell lines and ATL cells. 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007 年 10 月 4 日, 神奈川県, 横浜市, パシフィコ横浜.

17. Ishikawa, C, Anti-ATL effect of brown algae fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol. 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007 年 10 月 4 日, 神奈川県, 横浜市, パシフィコ横浜.

18. Nakazato, T, Overexpression of MMP-7 in ATL. 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007 年 10 月 4 日, 神奈川県, 横浜市, パシフィコ横浜.

19. Tomita, M., Dysregulation of mitotic checkpoint proteins Chfr and Aurora A in HTLV-I-infected T-cells. 13th

International Conference on Human Retrovirology, 2007 年 5 月 25 日, 神奈川県, 箱根町, 箱根プリンスホテル.

20. Teruya, H, HTLV-1 can infect human lung epithelial cells and induce gene expression of cytokines, chemokines, and cell adhesion molecules. 13th International Conference on Human Retrovirology, 2007 年 5 月 24 日, 神奈川県, 箱根町, 箱根プリンスホテル.

21. Nakazato, T, Anti-ATL effects of a novel synthetic retinoid, Am80 (Tamibarotene) through inhibition of NF- κ B. 13th International Conference on Human Retrovirology, 2007 年 5 月 24 日, 神奈川県, 箱根町, 箱根プリンスホテル.

22. Ishikawa, C, HTLV-1 Tax activates CD69 gene expression. 13th International Conference on Human Retrovirology, 2007 年 5 月 24 日, 神奈川県, 箱根町, 箱根プリンスホテル.

23. Tomita, M., Dysregulation of mitotic checkpoint proteins Chfr and Aurora A in HTLV-I-infected T-cells. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research 2007, 2007 年 4 月 17 日, アメリカ, ロサンゼルス, コンベンションセンター.

〔図書〕(計 1 件)

1. Tomita, M., Nova Science Publishers, Inc, Cell Apoptosis and Cancer. 2007, 193.

6. 研究組織
(1) 研究代表者

富田 真理子 (TOMITA MARIKO)
琉球大学・医学研究科・助教
研究者番号: 80381250