

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2011～2015

課題番号：23241075

研究課題名(和文)糖鎖プライマー法を活用した新規グライコミクスを基盤とする細胞機能の解析と制御

研究課題名(英文) Analysis and control of cell function based on novel glycomics using saccharide primer method

研究代表者

佐藤 智典 (Sato, Toshinori)

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：00162454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,200,000円

研究成果の概要(和文)：糖鎖プライマー法を用いた新規なグライコミクスとして、細胞間での比較糖鎖解析を実施した。これにより、骨肉腫や肺腺がん細胞の転移性およびHCVのゲノム複製に關与する糖鎖などを特定し、細胞の遊走能やHCVゲノム複製の抑制に成功した。また、糖鎖プライマー法により得られた糖鎖ライブラリーを用いて、インフルエンザウイルスの検出法やムコ多糖症の新生児マススクリーニングのための診断基質を開発した。さらに、iPS細胞の品質評価や新規ドラッグデリバリーの開発などの多方面への展開についての成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we carried out the comparative glycan analysis between cells using saccharide primer method. By the comparative analysis using saccharide primers, glycans contributed to metastasis of osteosarcoma cells or pulmonary adenocarcinoma cells and replication of genome of hepatitis C virus in cells were identified. By the overexpression or knockdown of glycosyltransferases related to the biosynthesis of the glycans, the cell migration and replication of HCV genome were successfully suppressed. Furthermore, using saccharide libraries obtained by saccharide primer method, detection method of influenza virus and substrates for neonatal mass screening of mucopolysaccharidosis were developed. By the progress of glycan technology, the evolution toward novel diagnostic technique, quality assessment of iPS cells, mechanism analysis of disease related with glycan, development of novel drug delivery systems, and control technique of cell function was achieved.

研究分野：生体関連化学

 キーワード：グライコミクス 糖鎖工学 糖鎖プライマー 質量分析装置 がん細胞 インフルエンザウイルス C型
 肝炎ウイルス iPS細胞

1. 研究開始当初の背景

細胞表面の糖鎖分子は、分化や増殖などの細胞機能に関与しており、病原性分子やウイルスに対する受容体でもある。細胞に発現している糖鎖は糖脂質、糖タンパク質、プロテオグリカンのような複合糖質として提示されている。本研究では、糖鎖プライマー法を用いて、細胞に発現する糖鎖構造を迅速かつ簡便に測定する手法の確立とその糖鎖の機能解析について検討する。糖鎖プライマーとは細胞内の糖転移酵素の基質となるアルキルグルコシドである。糖鎖プライマーを細胞の培養液に加えておくことで細胞内に取り込まれ、細胞固有の糖鎖生合成経路に従った糖鎖伸長生成物が合成され、細胞外に分泌される。生成物は培養液中から回収されるので、逆相カラムなどを用いることで簡便に分離でき、糖鎖プライマーに伸長した糖鎖構造は質量分析装置などにより解析できる。特に、高速液体クロマトグラフィーとエレクトロスプレーイオン化型質量分析装置をオンラインで接続した LC-MS を用いることで、迅速な構造解析が可能になった。これまでに、細胞に発現する多様な糖鎖生合成経路に対応するために複数の糖鎖プライマーの開発を行った。Lac-C12 ではガングリオ系列・グロボ系列など、GlcNAc-C12 ではネオラクト系列・ラクト系列など、GalNAc-Thr-C12 ではムチン型、Xyl-Ser-C12 ではグリコサミノグリカン型の糖鎖が伸長されることを明らかにしている。50 種類以上の細胞に糖鎖プライマーを投与することで、110 種類以上の糖鎖ライブラリーを得ることに成功しており、糖鎖ライブラリーの構築を行ってきた。これらの研究を継続・発展させることで、癌・感染症においては発症メカニズムの解析や診断・創薬を、幹細胞による再生医療では分化/未分化を制御する分子機構の解析や細胞の品質管理技術への展開が期待される。

2. 研究の目的

糖鎖プライマー法を用いたグライコミックスの技術基盤を確立するために、LC-MS を用いた構造解析を行い、種々のがん細胞、HCV などのウイルスの感染に関与する細胞、さらには iPS 細胞などの幹細胞を用いて実施する。細胞の性質に関わる糖鎖や糖鎖合成遺伝子の特定、複合糖質の構造解析、糖鎖による細胞機能の制御機構の解析、抗糖鎖プローブの開発、ウイルス遺伝子の抑制剤の開発、幹細胞の品質評価方法の開発、糖鎖ライブラリーの活用などを行う。

3. 研究の方法

糖鎖プライマーは既に確立した方法で合成する。細胞としては、胃がん細胞、乳がん細胞、大腸がん細胞、HCV の感受性の異なる細胞、ヒト iPS 細胞、あるいは正常ヒト皮膚線維芽細胞などを用いた。糖鎖プライマーを添加した培養液を用いて細胞と 2 日間程度培養した。培地中の生成物は逆相カラムを用いて回収し、LC-MS を用いて分析した。各細胞において特徴的な糖鎖の合成遺伝子を定量 PCR 法により検出した。糖鎖合成遺伝子の配列情報は KEGG Glycan などのデータベースから取得した。糖鎖構造の発現と糖鎖合成遺伝子の発現レベルとの関連性を明らかにし、糖鎖合成遺伝子の強制発現やノックダウンを行うことで、糖鎖の発現と細胞機能との関連性の評価を行った。アジド基を有した糖鎖プライマーを用いて糖鎖伸長生成物を作製し、微粒子表面に固定化した。

4. 研究成果

(1) 転移性がん細胞での糖鎖解析と細胞遊走能の制御

糖鎖プライマー法を用いて、低転移性のマウス骨肉腫 FBJ-S1 細胞と高転移性の FBJ-LL 細胞に発現する糖鎖を比較解析し、転移に関与する糖鎖の同定を行った。糖鎖プライマーとして Lac-C12, Xyl-Ser-C12 などを用いて、FBJ-S1 細胞と FBJ-LL 細胞における生成物の比較解析を行った。Lac-C12 の投与により、低転移性の FBJ-S1 細胞において、GD1a などのガングリオ系列の発現が顕著に高いことが見出された。また、Xyl-Ser-C12 由来の糖鎖伸長生成物の解析により、高転移性の FBJ-LL 細胞においてグリコサミノグリカン (GAG) のひとつであるヘパラン硫酸型の糖鎖の発現量が低下している事が見出された。次に、ガングリオシド GD1a が FBJ 細胞の遊走能を制御する作用機序の解析を行なった。GD1a の発現と Caveolin1 および肝細胞増殖因子 HGF などの転移に関与する分子の発現の関連性について検討した。これにより、FBJ 細胞において、GD1a が Caveolin1 を介して HGF の発現を制御していることが示された。また Caveolin1 の発現抑制により、FBJ-S1 細胞の遊走能が向上することが明らかとなった。更に FBJ 細胞における Xyl-Ser-C12 由来の糖鎖伸長生成物の比較解析の結果に基づき、GAG の合成酵素と分解酵素の発現と細胞遊

走能との関連について検討した。ヘパラン硫酸の合成遺伝子 Ext1 が分解酵素であるヘパラーゼの遺伝子の発現を制御して、さらに細胞遊走能を制御していることを明らかにした。

次に、転移性の異なる肺がん細胞に糖鎖プライマーを投与することで、高転移性のヒト肺腺がん A549 細胞では硫酸化糖鎖が顕著に高発現していることが見いだされた。そこで、硫酸化糖鎖の合成に関与する硫酸基転移酵素遺伝子の発現解析を行った。A549 細胞では、硫酸基転移酵素遺伝子 GAL3ST1 と GAL3ST3 が高発現していることが見いだされた。A549 細胞において硫酸基転移酵素遺伝子 GAL3ST3 をノックダウンした際に有意な遊走能の低下が見られた。これにより GAL3ST3 により生合成された硫酸化糖鎖が肺がん細胞の転移性に関与していることが示唆された。

(2) C 型肝炎ウイルス (HCV) のゲノム複製に関与する糖鎖の解析と HCV ゲノム複製の抑制

HCV はヒトの肝細胞に感染し、慢性肝炎から肝硬変、肝がんへと進行させる病原ウイルスである。現在までに、HCV RNA はオルガネラ膜上でゲノム複製することが知られている。HCV RNA 持続細胞(SGR-Luc 細胞)に糖鎖プライマーを投与したところ、ネオラクト系糖鎖の発現減少が確認された。そこで、ネオラクト系列の糖鎖の生合成を向上させる目的で、SGR-Luc 細胞に Gal、GlcNAc および ManNAc を添加したところ、ネオラクト系糖脂質 nLc4Cer などの増加が見られ、それに伴い、ウイルスゲノムの複製が阻害されることが明らかとなった。さらに、ネオラクト系の律速酵素は、Lc3Cer 合成酵素である B3GNT5 であることが示唆されたことから B3GNT5 の発現ベクターを作製し、SGR-Luc 細胞にトランスフェクションすることで、B3GNT5 過剰発現 SGR-Luc 細胞を樹立した。この細胞におけるウイルスゲノムの複製量を比較定量した結果、SGR-Luc 細胞と比較して 95% の減少が示された。これにより、HCV のゲノム複製が細胞に発現する糖鎖により制御されていることを見いだした。

(3) ムチン型糖鎖の生合成における糖アミノ酸の影響

ムチン型糖鎖は糖鎖がタンパク質のセリン (Ser) またはスレオニン (Thr) 残基に結合した構造を持つ。しかしながら、Ser と

Thr による糖鎖構造の違いは明らかになっていない。そこで、ムチン型糖鎖のタンパク質と糖鎖との結合部分である GalNAc-Ser あるいは GalNAc-Thr を骨格に持つ 2 種類の糖鎖プライマーを合成した。それらを MKN45 細胞などの胃がん細胞に投与して得られる糖鎖伸長生成物の違いを検討した。MKN45 細胞においては、GalNAc-Thr 型糖鎖プライマーでシアリル Tn および分岐型のシアリル T 抗原型糖鎖が多く得られた。一方、GalNAc-Ser 型糖鎖プライマーではフコシル T 型糖鎖が多く得られた。また、無細胞系での糖鎖伸長反応より、MKN45 細胞でのシアリル Tn 抗原型の糖鎖伸長効率は GalNAc-Thr-C12 > GalNAc-Ser-C12、T 抗原型の糖鎖伸長効率は GalNAc-Ser-C12 > GalNAc-Thr-C12 となった。フコシル T 型糖鎖は GalNAc-Ser-C12 からのみ糖鎖伸長が見られた。よって、シアリル Tn 抗原合成酵素は GalNAc-Thr 型に、T 抗原、フコシル T 合成酵素は GalNAc-Ser 型に高い基質特異性を示し、アミノ酸の違いがムチン型糖鎖の糖鎖構造や生合成経路に影響を与えていることを明らかにした。

(4) 糖鎖プライマー法により得られた糖鎖ライブラリーの活用法 (その 1)

インフルエンザウイルス (IFV) の感染は、その膜タンパク質であるヘマグルチニン (HA) が宿主細胞表面上に存在する糖鎖に特異的に結合することから始まる。IFV の検出法の一つであるウイルス分離培養法では、分離したウイルスに赤血球を加えて凝集を観察する赤血球凝集アッセイという手法によって IFV を同定する。赤血球表面上の糖鎖と HA との結合を利用した方法であるが、近年では凝集活性の低い IFV が出現してきており、赤血球凝集アッセイに代わる新しい検出法が求められている。そこで、糖鎖プライマー法により得られたオリゴ糖を用い、それを基板および粒子に固定化することで新しい検出法の開発を行った。

MDCK 細胞にアジド化糖鎖プライマーを投与することで糖鎖伸長生成物を得た。酸性糖画分にはシアル酸含有糖鎖や硫酸化糖鎖など IFV と親和性が高いと考えられる糖鎖が主成分として含まれていることが分かった。続いて、酸性糖画分をクリック反応によりポリスチレン粒子表面に固定化した。酸性糖固定化粒子は HA および IFV の添加により凝集するが判った。赤血球凝集アッセイの結果と比較すると、その検出感度は 2~100 倍に

向上した。この結果より、糖鎖プライマー法で得られた糖鎖ライブラリーは IFV の検出に有用であることが示され、今後、感染症サーベイランスの分野で赤血球凝集アッセイに代わる方法となる可能性が示された。

(5) 糖鎖プライマー法により得られた糖鎖ライブラリーの活用法 (その2)

ムコ多糖症 (MPS) とは、ムコ多糖 (グリコサミノグリカン, GAG) を分解する酵素が欠損している生じる先天性の代謝疾患である。ムコ多糖症は進行性の病気であるため、早期診断・早期治療が症状進行を食い止めるための有効な手段である。現在、小児難病の早期発見を目的とした新生児マススクリーニングにおいて、乳児の血液からムコ多糖分解酵素の酵素活性を測定することで、ムコ多糖症を診断する検査技術の開発が進められており、早期にムコ多糖症の診断を可能にする基質の開発が望まれている。そこで、糖鎖プライマー-Xyl-Ser-C12 を用いてムコ多糖症診断基質へ応用可能な糖鎖ライブラリーの作製を行った。まず、正常ヒト皮膚線維芽 (NB1RGB) 細胞に Xyl-Ser-C12 を投与し、得られた糖鎖伸長生成物の構造解析を行ったところ、21 種類の GAG 型糖鎖ライブラリーが得られた。二糖解析の結果、得られた糖鎖伸長生成物はコンドロイチン硫酸型であり、*N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) の 4 位や 6 位が硫酸化されていることが明らかとなった。次に、MPS II 型診断基質となる糖鎖伸長生成物を獲得するため、NB1RGB 細胞に、レトロウイルスにより硫酸基転移酵素 (UST) を安定発現させた細胞株を樹立した。この細胞では、硫酸化糖鎖伸長生成物の種類や量の増加が観察され、二糖解析により、ヘキサロン酸 (HexA) の 2 位が硫酸化された Δ CS-2S4S の増加がみられた。よって、デルマタン硫酸型の糖鎖ライブラリーが得られていることが示された。これにより、ムコ多糖症の I, II, IVA, VI, および VII 型に対する診断基質になると期待される糖鎖ライブラリーを獲得できた。

(6) ヒト IPS 細胞に発現する糖鎖解析

ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を再生医療や創薬研究などに利用する際の安全性や有用性を検証するために、細胞の品質に関する新たな基準や評価技術の確立が求められている。そこで、LC-MS を用いた糖鎖解析手法を活用して、iPS 細胞と体細胞 (親株細胞) に発現する糖脂質の解析を行った。幹細胞に

おいて糖脂質は細胞の分離や選別の際のマーカーとして機能している。グロボ系糖鎖抗原の SSEA3 や SSEA4 は、ヒト ES や ヒト iPS 細胞において未分化特異的なマーカーとして利用されている。しかし、iPS 細胞における糖脂質の発現についてはまだ十分に明らかにされていない。そこで、親株細胞と iPS 細胞において糖脂質や糖転移酵素の発現を比較し、iPS 細胞に特徴的な糖脂質の構造や生合成経路について検討した。その結果、親株細胞ではガングリオ系糖脂質の発現が主に見られ、一方、iPS 細胞ではグロボ系やラクト/ネオラクト系糖脂質の発現が主に観察された。特に、iPS 細胞において特徴的な糖脂質としてグロボ系の Globo H とラクト/ネオラクト系の H antigen を同定した。次に、検出された糖脂質の合成に関与している糖鎖合成遺伝子の発現量を定量 real-time PCR 法で解析したところ、親株細胞ではガングリオ系の糖脂質合成に関わる糖鎖合成遺伝子 (ST3GAL5 や B4GALNT1) の発現量が高かった。一方、iPS 細胞では A4GALT や B3GNT5 の発現量が高くなることが示され、ガングリオ系からラクト/ネオラクト系への糖脂質の生合成経路の転換が起きていることが示唆された。さらに、iPS 細胞では、特徴的な糖脂質として検出された SSEA3 や Globo H, H antigen の合成遺伝子である B3GALT5 や FUT1/FUT2 の発現量が高かった。これらの結果により、iPS 細胞の特性評価のひとつとして糖脂質や糖転移酵素が良いマーカーとなることを見いだした。

(7) グライコミクスの研究から派生した成果

- ① 質量分析装置を用いて糖鎖配列を解析するための補助ツールとして、糖鎖解析ソフトの開発を連携研究者の協力により実施した。これにより、既存のデーターを学習データーとして利用することで、糖鎖配列の推定精度の向上したプログラムが作成された。
- ② 細胞の有する糖鎖認識を利用した遺伝子のデリバリーシステムの開発を行った。特に、高い遺伝子発現システムの構築のためにリバーストランスフェクション (RTF) を実施した。RTF 法では、遺伝子/ヒアルロン酸/キトサン三元複合体が有用であることを見いだした。種々の細胞種に対して三元複合体の RTF による遺伝子発現活性は、通常の前ワードトランスフェクションと比較して数倍から数十倍も活性が向上した。
- ③ 神経細胞ではガングリオシド GM1 などが

多く発現しており、アルツハイマー病の原因タンパク質のひとつであるアミロイドベーター (A β) の凝集の場となっていることが報告されている。GM1 と A β の相互作用については様々な解析がされているものの、その詳細な凝集機構は未だ確定していないのが現状である。そこで GM1 含有脂質平面膜を用いて A β_{40} の凝集機構を原子間力顕微鏡で観察し、脂質組成と A β との相互作用との関係を明らかにした。

④抗糖鎖プローブとしてガングリオシド GM1 に結合するペプチドの開発を行った。ガングリオシド GM1 結合性ペプチドは、神経細胞膜の GM1 クラスターの確認に利用できることが示され、さらに脂質膜上での A β_{40} の凝集と線維化を抑制することが見いだされた。さらに、GM1 を標的とするドラッグデリバリーシステムに活用できることも見いだした。

(8) 総括

本研究の一番の課題であった糖鎖プライマー法を用いたグライコミクスとして、細胞間の糖鎖の比較解析法の確立を行うことができた。特に、糖鎖プライマーとして糖タンパク質やプロテオグリカン型の糖鎖を解析するための糖鎖プライマーを開発して、その有効性を明らかにすることができた。がんの転移性や HCV の感染に関与する糖鎖を特定できたことは、糖鎖プライマー法によるグライコミクスの有用性を示す成果である。さらに、糖鎖プライマー法により得られた糖鎖ライブラリーの活用分野として、インフルエンザウイルスの検出や、ムコ多糖症の新生児マスキリーニングへの応用が期待される成果が得られたことで、今後の発展性が高い技術であることを実証できた。

このようにグライコミクスの研究分野を発展させることで、新たな診断や細胞の品質評価に関わる糖鎖の解析、糖鎖が関与する疾病の機序解析、さらには糖鎖認識を利用した新規ドラッグデリバリーの開発と細胞機能制御技術への活用などの多方面への展開が可能になってきた。

ポストゲノム解析における重要な出口技術でありながら、遺伝子やタンパク質の研究と比較して遅れが危惧されていた糖鎖研究の分野に、糖鎖プライマー法という簡便な糖鎖技術を活用することで、グライコミクスにおける新たな基盤技術を確立することができた。

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 23 件)

- ① T. Ojima, E. Shibata, S. Saito, M. Toyoda, H. Nakajima, M. Yamazaki-Inoue, Y. Miyagawa, N. Kiyokawa, J. Fujimoto, T. Sato, A. Umezawa, Glycolipid dynamics in generation and differentiation of induced pluripotent stem cells, *Scientific Reports*, **5**, 14988 (2015) doi:10.1038/srep14988 査読有
- ② N. Oikawa, T. Matsubara, R. Fukuda, H. Yasumori, H. Hatsuta, S. Murayama, T. Sato, A. Suzuki, K. Yanagisawa, Imbalance in fatty-acid-chain length of gangliosides triggers Alzheimer amyloid deposition in the precuneus, *PLOS ONE*, **10**(3): e0121356 (2015). doi:10.1371/journal.pone.0121356 査読有
- ③ T. Matsubara, K. Iijima, T. Watanabe, T. Hohsaka, T. Sato, Incorporation of glycosylated amino acid into protein by an in vitro translation system, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **23**, 5634-36 (2013) 査読有
- ④ T. Matsubara, K. Iijima, N. Yamamoto, K. Yanagisawa, T. Sato, The density of GM1 in nanoclusters is a critical factor in the formation of a spherical assembly of amyloid β -protein on synaptic plasma membranes, *Langmuir*, **29**, 2258-64 (2013) DOI: 10.1021/la3038999 査読有
- ⑤ Y. Wang, X. Yang, S. Yamagata, T. Yamagata, T. Sato, Involvement of Ext1 and heparanase in migration of mouse FBJ osteosarcoma cells, *Mol. Cell Biochem.*, **373**, 63-72 (2013) DOI 10.1007/s11010-012-1475-8 査読有
- ⑥ Y. Wang, T. Kumazawa, K. Shiba, K. Osumi, M. Mizuno, T. Sato, Glycosylation of N $^{\alpha}$ -lauryl-O-(β -D-xylopyranosyl)-L-serinamide as a saccharide primer in cells,

Carbohydrate Res., **361**,33-40 (2012)
査読有

〔学会発表〕 (計 140 件)

- ① H. Yamaguchi, J. Yamaguchi, N. Katano, T. Suzuki, T. Sato, Analyses of Glycans Expressed in Human Hepatoma Cells Sensitive to Hepatitis C Virus Sensitive Cells, Pacificchem 2015.12.14-20 「Honolulu (USA)」
- ② R. Sakura, Y. Takahashi, T. Sato, Analysis of mucin-type O-glycans in tumor cells by saccharide primer method, Pacificchem 2015.12.14-20 「Honolulu (USA)」
- ③ T. Sato, Analyses for recognition function of glycolipids using planar lipid membranes, Pacificchem 2015.12.14-20 「Honolulu (USA)」
- ④ 佐藤智典、大上彩香、松原輝彦、糖鎖プライマー法により得られたオリゴ糖を用いるインフルエンザウイルスの検出法の開発、日本糖質学会第34回年会、2015年7月31日～8月2日、東京大学（東京都・文京区）
- ⑤ Y. Shibano, Y. Konno, Y. Furuichi, T. Sato, Analysis of Glycans Related to Metastasis of Human Cancer Cells by Saccharide Primer Method, SFG & JSCR 2014 Joint Annual Meeting, 2014.11.16-19 「Honolulu (USA)」

〔図書〕 (計 3 件)

- ① 佐藤智典、糖鎖プライマー法、糖鎖の新機能開発・応用ハンドブック、pp. 380-382, NTS (2015)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 5 件)

名称：新規糖鎖ライブラリー、並びにその製造方法及びその使用方法
発明者：佐藤智典、小野寺雅史、中島英規
権利者：学校法人慶應義塾、国立研究開発法人国立成育医療研究センター
種類：特許
番号：特願 2016-046246
出願年月日：2016年3月9日
国内外の別：国内

名称：タンパク質又は病原体の新規検出方法
発明者：佐藤智典・松原輝彦・栄長泰明・山本 崇史

権利者：学校法人慶應義塾

種類：特許

番号：特願 2015-093132

出願年月日：2015年4月30日

国内外の別：PCT 出願

○取得状況 (計 3 件)

名称：HCV RNA 複製抑制剤

発明者：佐藤智典、鈴木哲朗、川口光朗

権利者：学校法人 慶應義塾、国立大学法人 浜松医科大学、焼津水産化学工業株式会社

種類：特許

番号：特許第 5807895 号

取得年月日：2015年9月18日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐藤 智典 (SATO, Toshinori)

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：00162454

(2)研究分担者

松原 輝彦 (MATSUBARA, Teruhiko)

慶應義塾大学・理工学部・講師

研究者番号：10325251

(3)連携研究者

榊原 康文 (SAKAKIBARA, Yasubumi)

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：10287427

藤本 純一郎 (Fujimoto, Junichiro)

独立行政法人国立成育医療研究センター・臨床研究センター・センター長

研究者番号：60175578

梅澤 明弘 (Umezawa, Akihiro)

独立行政法人国立成育医療研究センター・生殖医療研究部・部長

研究者番号：70213486

鈴木 哲朗 (SUZUKI, Tetsuro)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：00250184