

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：33912

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500624

研究課題名(和文) 関節不動化によって生じる筋性疼痛のメカニズムの解析と疼痛発生の予防

研究課題名(英文) Study on the mechanism for immobilization induced muscular pain and on a method preventing generation of this painful state.

研究代表者

肥田 朋子 (KOEDA, Tomoko)

名古屋学院大学・リハビリテーション学部・教授

研究者番号：20223050

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：健常ラットの足関節をギプス固定した不動化モデルを用いて、筋に損傷がなくても不動化により筋に痛みが生じることを明らかにした。筋痛の発生メカニズムには神経の痛み伝達に関係する神経成長因子やカルシトニン遺伝子関連ペプチドの関与が示唆された。1日15分の自由運動や20分の温水内自由運動は、この筋痛を一部予防した。また不動化に陥る前の運動習慣が不動化による疼痛発生の影響を与える可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Both or unilateral ankle joints of intact rats were immobilized by plaster cast. We showed that the muscular mechanical hyperalgesia was induced after joint immobilization, without having tissue damage at light microscopic level. Nerve growth factor and calcitonin gene related peptide, which are involved in pain transmission, may be responsible for this painful condition of the muscle. Free movement for 15 min a day or free movement in the warm water for 20 min a day partially prevented from developing muscular hyperalgesia. Exercise before immobilization might also suppress this muscular pain.

研究分野：リハビリテーション科学・福祉工学

科研費の分科・細目：人間医工学、リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：関節不動化 筋性疼痛 疼痛行動評価 カルシトニン遺伝子関連ペプチド 神経成長因子 運動

1. 研究開始当初の背景

慢性痛は、炎症のように痛みが続く状態や、逆に不動化のように刺激が入力されにくい状態によっても神経系の可塑的な変容によって生じることが分かってきている。特に不動化による場合は、この高齢社会にあって増加する危険性のある寝たきり状態でも発生することが考えられ、その発生予防は喫緊の課題である。我々はこれまでにギプス固定ラットを作成し、固定中の皮膚性疼痛の変化を調べたところ、すでに固定途中から皮膚性疼痛が出現することを確認した。また、固定条件による行動量の違いと痛みの程度にも相関関係が認められた。そのため、活動量を増加させることや不活動による筋萎縮予防を目的とした理学療法がその疼痛発生に抑制的な影響を与えることを明らかにしてきた。また皮膚に限らず、筋においても疼痛が固定開始後早期より出現することを確認しており、筋性疼痛発生予防や軽減も重要となってくる。

2. 研究の目的

関節不動化モデルにおける筋性疼痛に注目し、その発生メカニズム、理学療法が筋性疼痛発生を予防・軽減するかを明らかにする。

3. 研究の方法

3 - 1 関節不動化モデルにおける疼痛発生とその発生メカニズムの検討

Wister 系雄ラットを用い、ギプス固定を行う群（固定群、CAST）とギプス固定を行わない群（健常群、CON）に分けた。固定群は、両側あるいは片側の膝関節から足趾基部まで足関節底屈位に保持した状態で石膏ギプスを巻き、4 週間固定した。ギプスは後肢の形状変化に伴って緩みが生じたり、かじられるなど固定が不十分と判断された場合には適宜巻き直しを行った。また、浮腫などが生じないように注意した。飼育室の照明は、12 時間ごとに明暗をコントロールし、室温は一定条件下(23±1)とした。また、餌と水は自由に摂取させた。

(1) 関節不動化ラットの皮膚性ならびに筋性疼痛の行動学的解析

皮膚痛覚閾値検査

疼痛の行動学的解析には固定群 5 匹、健常群 5 匹を用いた。

皮膚痛覚閾値測定には痛み刺激に対する逃避反応を利用した。刺激強度が 1g, 2g, 4g, 8g, 12g, 16g, 20g、それ以降は 5g 刻みになるよう自作した複数の von Frey Filament (以下、VFF) を用いて逃避反応が生じる刺激強度閾値を調べた。左肢をギプス固定した状態でラットの両後肢を出した状態につりさげ、把持したラットの足底部に VFF 刺激を与えた。刺激は圧が小さいものから順に与え、up-down 法を用いた。測定は週 5 回、固定前

から固定後 4 週間継続して行い、各肢で 1 週間ごとのデータの平均値を各期間の代表値とした。

なお、本課題研究の後半ではギプスを除去した状態でラットの両後肢をネットから出して吊り下げた状態で評価した。

筋圧痛閾値検査

筋圧痛閾値は刺激を一定速度で与えることのできる Randall-Selitto 装置 (圧刺激鎮痛効果測定装置、Ugo-Basile 社製) を用いて測定した。ラットはイソフルラン麻酔下で一時的にギプスを除去し、タオルで保定し、完全に麻酔から覚醒したことを確認してから行った。ラットは、刺激を与える後肢を下にした側臥位とし、下腿内側面の腓腹筋筋腹に徐々に加圧した。刺激に対して後肢を動かすなどの逃避反応時の圧迫値を記録した。測定日などは皮膚痛覚閾値と同様とした。なお、ギプス固定を行った不動肢は測定中も荷重されないように注意して実験を行った。

(2) ヒラメ筋における組織学的検討

健常群、固定群それぞれ 5 匹を用いた。関節不動化 4 週間後、イソフルラン吸引麻酔、ネプタール腹腔麻酔下にて両側のヒラメ筋を摘出し、その中央部で 2 分割し、トラガカントゴムに包埋した後、ドライアイスで冷却したイソペンタン内で急速凍結した。凍結した筋試料から Cryostat (LEICA CM 1850) を用いて 10 μm 厚の凍結横断切片を作成し、ヘマトキシリン-エオジン染色後、壊死線維、中心核線維を確認した。壊死線維は筋細胞内にマクロファージの浸潤が認められるものとした。無作為に抽出した 100 本の筋線維に対する壊死線維数の割合を求め、これを壊死線維の発生頻度とした。中心核線維は筋線維の再生過程にあると考えられている中心核を持った筋線維を数え、同様に割合を求めた。

(3) 腓腹筋における生化学的解析

健常群、固定群それぞれ 8 匹を用いた。関節不動化 4 週間後、イソフルラン吸引麻酔、ネプタール腹腔麻酔下にて両側の腓腹筋の一部を採取、ホモジナイズし、Nerve growth factor (NGF) を ELISA 法にて定量した。

(4) 後根神経節における組織学的検討

サブスタンス P (SP) 含有細胞

健常群、固定群それぞれ 5 匹を用いた。ヒラメ筋摘出後、灌流固定し、L4-6 の後根神経節 (dorsal root ganglion; 以下、DRG) を摘出した。ザンボ二固定液で後固定を行った後、30% Sucrose で固定液を抜き、L4-6 の DRG を OCT コンパウンド (Tissue Tek) にて包埋した。標本は Cryostat (LEICA, CM1850) にて縦断方向に 10 μm 厚に薄切後、ABC 法を用いてサブスタンス P の免疫染色を行った。染色後、画像を PC へ取り込み、L4-6 の DRG における全細胞数に対するサブスタンス P 含有細胞数を含有率として算出した。また Scion

Imageにて神経細胞の面積を測定した。

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 含有細胞

L4-6 DRG を SP の免疫染色と同様の手法にて CGRP の免疫染色を行い、Image Jにて全細胞数と CGRP 含有細胞数ならびに面積を測定した。CGRP 含有細胞は、健常群 7 匹と固定群 3 匹を用い、面積 $600 \mu\text{m}^2$ 未満を小型細胞、 $1200 \mu\text{m}^2$ 以上を大型細胞、その中間を中型細胞として各細胞の全細胞に対する割合を調べた。

(5) 統計解析

行動学的解析の経時的変化に対しては繰り返しのある一元配置分散分析を行い、後検定には Bonferroni 法を用いた。固定群と不動群の比較には対応のない t 検定もしくは対応のある t 検定を用いた。全ての統計手法の有意水準は 5 %未満とした。

3 - 2 関節不動化モデルに対する理学療法の検討

(1) 事前運動の効果

Wister 系雄ラット 10 匹に対し左足関節底屈位でギプス固定を 4 週間行ったが、不動化する前に無作為にトレッドミル走を行う群 (T 群) と行わない群 (G 群) に 5 匹ずつ振り分けた。事前にトレッドミル走を行った T 群は 25 m/s、傾斜 0° で 20 分間トレッドミル上を 5 日間走行させた。G 群はトレッドミル期間に合わせて通常飼育しその後両群とも足関節を不動化した。

これらのラットにおける事前運動の効果は疼痛閾値を行動学的な変化から確認し、DRG における SP 含有細胞を調べた。

(2) 自由運動の効果

ラット 6 匹を自由運動を行わない両足固定群 (以下 NG 群、3 匹 6 肢)、自由運動を行う両足固定群 (以下 FG 群、3 匹 6 肢) に振り分けた。

自由運動を行う FG 群は、不動 4 週間のうち週 5 日間、ギプスを除去し、ケージ内で 15 分間自由運動させた。自由運動には、歩行だけでなく、後肢での立ち上がりも含めた。自由運動の効果は疼痛閾値を行動学的な変化から確認し、DRG における CGRP 含有細胞率を調べた。

(3) 温水内自由運動の効果

ラットの右後肢足関節にギプス固定を行い、無作為に温水内自由運動を行わせた群 (HG 群、6 匹) と温水内自由運動を行わせたなかった群 (CG 群、5 匹) に振り分けた。HG 群は週 5 日、1 日 20 分間、ギプスを除去し 41 の温水内を自由運動させた。足関節固定期間は 4 週間とした。

温水内自由運動の効果は疼痛閾値を行動学的な変化から確認し、DRG における CGRP 含有細胞は、それぞれの対側と比較した。

さらに、ヒラメ筋の毛細血管数についても調べた。4 週間の関節不動化後、ヒラメ筋を摘出し、前述のように横断切片を作成し、アルカリフォスファターゼ染色を行い、筋細胞周囲の毛細血管数を無作為に選択した筋線維 50 本から調べた。

(4) 統計解析

統計解析方法は 3 - 1 の方法に順じた。

4 . 研究成果

4 - 1 関節不動化モデルにおける検討

(1) 関節不動化ラットの皮膚性ならびに筋性疼痛の行動学的解析

VFF を用いた皮膚痛覚閾値は、固定群では 0 週目は $49.6 \pm 19.3 \text{ g}$ 、1 週目 $51.4 \pm 10.4 \text{ g}$ 、2 週目 $37.5 \pm 6.3 \text{ g}$ 、3 週目 $29.6 \pm 5.8 \text{ g}$ 、4 週目 $23.5 \pm 4.5 \text{ g}$ となり、2 週目以降有意に低下した ($p < 0.05$ 、図 1)。また、健常群は順に $46.2 \pm 10.4 \text{ g}$ 、 $47.5 \pm 11.5 \text{ g}$ 、 $45.0 \pm 9.9 \text{ g}$ 、 $41.8 \pm 5.2 \text{ g}$ 、 $44.6 \pm 6.9 \text{ g}$ とほぼ一定であった。3、4 週目の健常群と固定群の間には有意差が認められ、固定群は健常群に比べ有意に低下した ($p < 0.01$)。

筋圧痛閾値検査において、固定群は 0 週目 $137.5 \pm 9.2 \text{ g}$ 、1 週目 $92.4 \pm 11.3 \text{ g}$ 、2 週目 $54.2 \pm 6.7 \text{ g}$ 、3 週目 $38.7 \pm 3.6 \text{ g}$ 、4 週目 $45.8 \pm 6.7 \text{ g}$ と 1 週目以降有意に閾値が低下した (図 2)。健常群では順に $134.1 \pm 11.5 \text{ g}$ 、 $137.1 \pm 19.2 \text{ g}$ 、 $159.7 \pm 27.5 \text{ g}$ 、 $150.0 \pm 36.0 \text{ g}$ 、 $182.9 \pm 42.9 \text{ g}$ であり、5 週間に有意差を認めなかった。また、1 週目以降の健常群、固定群の間に有意差を認めた ($p < 0.01$)。

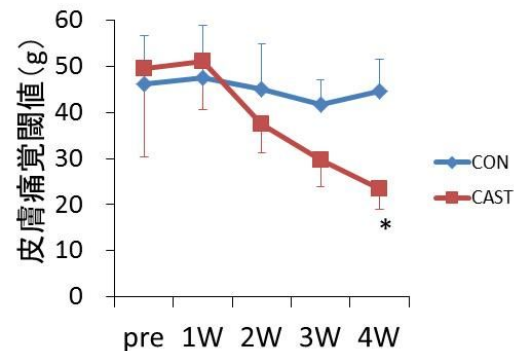


図 1 皮膚痛覚閾値の経時的変化

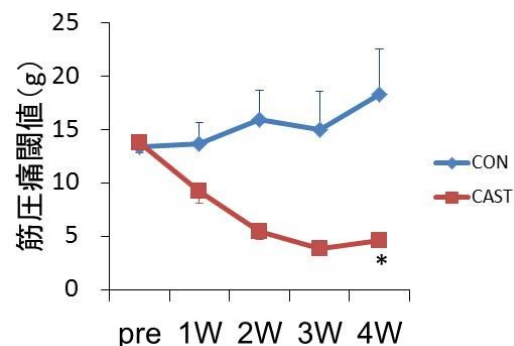


図 2 筋圧痛閾値の経時的変化

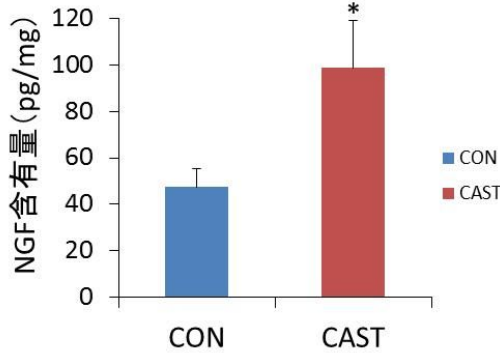


図3 腓腹筋内側頭における NGF 含有量

(2) ヒラメ筋における組織学的検討

中心核線維数は固定群では $3.6 \pm 1.9\%$ 、健常群では $2.8 \pm 1.0\%$ であった。また、壊死線維数は固定群では $0.7 \pm 0.6\%$ 、健常群では $0.3 \pm 0.5\%$ であった。中心核線維数および壊死線維数共に各群間に有意差は認められなかった。

(3) 腓腹筋における生化学的検討

腓腹筋における NGF 量は健常群で 47.43 ± 7.69 pg/mg、固定群で 98.70 ± 20.56 pg/mg であり、有意差が認められた ($p < 0.05$ 、図3)。

(4) DRG における組織学的検討

SP の影響

DRG における SP 含有細胞比率は固定群では $13.0 \pm 4.7\%$ 、健常群では $8.9 \pm 2.7\%$ であり、有意な差は認められなかったが、固定群の含有細胞比率が高い傾向がみられた。

CGRP の影響

健常群の DRG における CGRP 含有細胞比率は、小型細胞 $4.9 \pm 0.7\%$ 、中型細胞 $1.9 \pm 0.6\%$ 、大型細胞 $1.1 \pm 0.3\%$ であった。固定群のそれは、小型細胞 $7.2 \pm 1.7\%$ 、中型細胞 $2.9 \pm 0.4\%$ 、大型細胞 $0.5 \pm 0.2\%$ であり、小型と中型細胞で健常群より増加する傾向にあった。

4 - 2 関節不動化モデルに対する理学療法の検討の成果

(1) 事前運動の効果

不動化前の VFF による皮膚痛覚閾値を 100% とした経時的変化は、T 群においては 1 週目 $141.6 \pm 22.3\%$ 、2 週目 $128.4 \pm 21.0\%$ 、3 週目 $95.2 \pm 17.0\%$ 、4 週目 $82.7 \pm 19.6\%$ となり、1、2 週目と 3、4 週目の間で有意に低下した ($p < 0.05$) が 3、4 週目に差はなかった (図4)。G 群は 0 週目以降有意な閾値の低下が認められた ($p < 0.05$)。2 から 4 週目の時点で、T 群と G 群を比較すると、2 群間に有意差が認められ ($p < 0.05$)、T 群の皮膚痛覚閾値は G 群と比較して有意に低下を抑制していた。筋圧痛閾値検査において、T 群では 1 週目

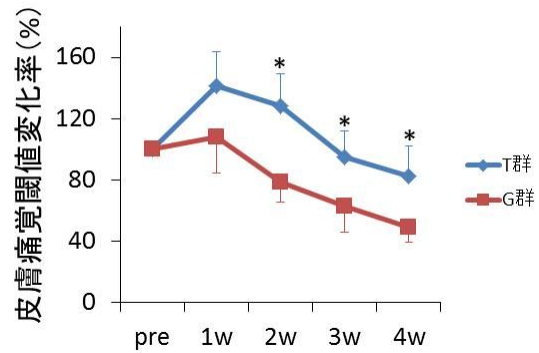


図4 皮膚痛覚閾値の変化率の経時的変化
不動化前のトレッドミル走 (T 群) により皮膚痛覚閾値の低下が抑制された。

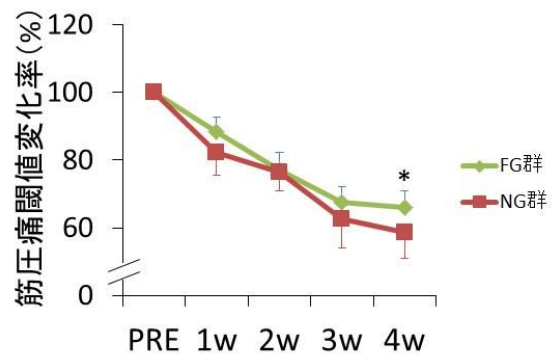


図5 自由運動による筋圧痛閾値変化率の経時的変化

$69.3 \pm 4.1\%$ 、2 週目 $51.0 \pm 9.0\%$ 、3 週目 $37.0 \pm 11.2\%$ 、4 週目 $42.9 \pm 12.9\%$ であり、0 週目と比較し 1 週目以降有意に閾値が低下したものの、1 週目以降には有意差は認められなかった。これに対し、G 群は 0 週目以降経時的に有意に閾値が低下した。しかし両群間に差は認められなかった。

DRG における SP 含有細胞比率は G 群では $13.0 \pm 4.7\%$ であったが、T 群では $13.5 \pm 0.2\%$ であり有意差を認めなかった。

(2) 自由運動の効果

0 週を 100% とした皮膚痛覚閾値は、FG 群は 1 週目 $98.8 \pm 22.4\%$ 、2 週目 $79.7 \pm 15.6\%$ 、3 週目 $75.2 \pm 9.6\%$ 、4 週目 $77.1 \pm 15.2\%$ であり、NG 群は、1 週目 $98.8 \pm 22.4\%$ 、2 週目 $79.7 \pm 15.6\%$ 、3 週目 $75.2 \pm 9.6\%$ 、4 週目 $77.1 \pm 15.2\%$ であった。4 週目の皮膚痛覚閾値の変化率は 2 群間に有意差を認めなかった。

0 週を 100% とした筋圧痛閾値は、FG 群は 1 週目 $88.4 \pm 4.4\%$ 、2 週目 $77.1 \pm 5.3\%$ 、3 週目 $67.4 \pm 4.7\%$ 、4 週目 $65.9 \pm 5.2\%$ であり、NG 群では、1 週目 $82.4 \pm 6.9\%$ 、2 週目 $76.4 \pm 5.5\%$ 、3 週目 $62.7 \pm 8.7\%$ 、4 週目 $58.7 \pm 7.7\%$ であった。4 週目の FG 群と NG 群間において有意差が認められた ($p < 0.05$ 、図5)。

DRG における CGRP 含有細胞数を全細胞数

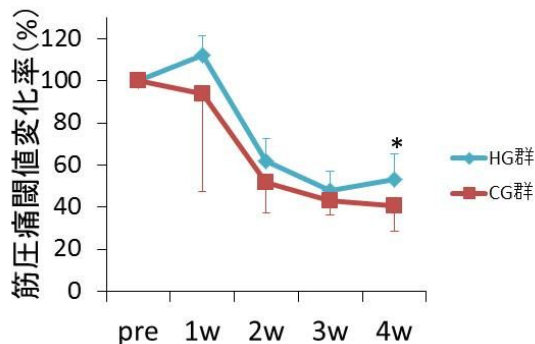


図6 温水内自由運動による筋圧痛閾値変化率の経時的変化

に対する割合から示した。その結果、自由運動を行ったFG群は $3.5 \pm 0.7\%$ 、自由運動を行わなかったNG群は $10.6 \pm 5.2\%$ であり、両群間に有意差を認めた ($p < 0.05$)。

(3) 温水内自由運動の効果

0週目100%とした皮膚痛覚閾値は、HG群は1週目 $125.3 \pm 24.1\%$ 、2週目 $87.2 \pm 23.0\%$ 、3週目 $82.9 \pm 23.6\%$ 、4週目 $87.5 \pm 18.7\%$ で、CG群は、1週目 $108.1 \pm 4.7\%$ 、2週目 $87.3 \pm 6.0\%$ 、3週目 $70.6 \pm 9.6\%$ 、4週目 $75.9 \pm 5.8\%$ であった。4週目における両群の値に差はなかった。

0週を100%とした筋圧痛閾値は、HG群は1週目 $107.5 \pm 13.5\%$ 、2週目 $65.5 \pm 12.3\%$ 、3週目 $48.2 \pm 8.7\%$ 、4週目 $54.2 \pm 12.3\%$ であり、CG群は1週目 $77.9 \pm 21.8\%$ 、2週目 $53.6 \pm 13.3\%$ 、3週目 $46.4 \pm 8.5\%$ 、4週目 $40.3 \pm 6.3\%$ であった。4週目における両群の値には有意差が認められた ($p < 0.05$ 、図6)。

DRGにおいて染色されたCGRP含有細胞を $100\mu\text{m}^2$ ごとに分割しCGRP含有細胞面積の割合の分布を調べた。その結果CG群の分布は対側の分布に比べ右方向へ偏位した(図7)。一方、HG群の分布は対側の分布と比べ右方向への偏位は認められなかった(図8)。

また、ヒラメ筋50本に対する毛細血管数は、HG群は 109.7 ± 17.9 本、HG群の対側は 105.3 ± 4.1 本、CG群は 114.4 ± 16.9 本、CG群の対側は 104.6 ± 19.7 本であり、全ての群間に有意差は認められなかった。

4-3 まとめ

関節不動化モデルにおいて皮膚性疼痛だけでなく筋性疼痛が生じることが明らかとなった。その発生メカニズムとして、筋組織に目立った損傷は認められず、損傷による疼痛発生は考えにくかった。一方、不動化モデルにおいては腓腹筋におけるNGFが増加しており、NGFの関与が示唆された。またDRG中型細胞におけるCGRPの発現が増加することが影響している可能性が確認された。

関節不動化モデルに対する理学療法が筋

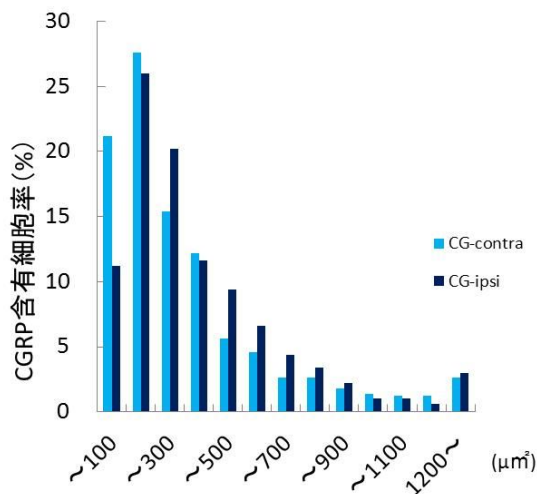


図7 CG群におけるCGRP含有細胞の面積分布

CG-ipsi;ギプス固定側、CG-contra;非固定側

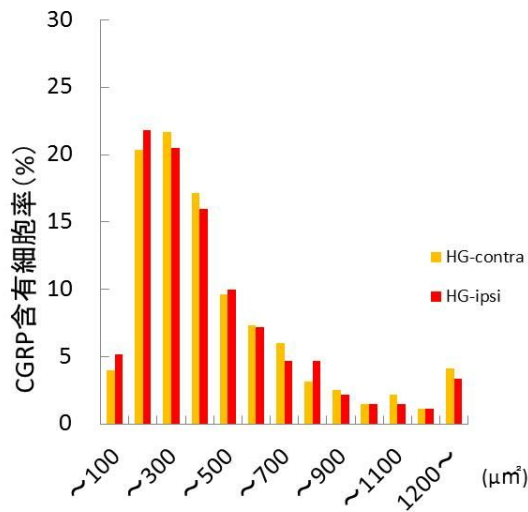


図8 HG群におけるCGRP含有細胞の面積分布

HG-ipsi;ギプス固定側、HG-contra;非固定側

性疼痛発生を予防・軽減するかを明らかにする目的で、特に運動に着目し種々の理学療法を試みた。その結果、行動学的評価から筋性疼痛に対し運動は疼痛発生を部分的に抑制しうることが確認された。不動化に陥る前に実施した運動のみで抑制効果がある程度認められたことは運動習慣の有無に左右される可能性があり、その後の疼痛発生の可能性を予測することに役立つかもしれない。また不動期間中になるべく運動の機会を持つことが可能であれば、ある程度疼痛抑制が可能であり、疼痛コントロールに結びつく可能性が示せた。

筋性疼痛発生と理学療法による疼痛抑制メカニズムに関しては、関与因子がある程度特定できたにすぎず、今後さらなる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 13 件)

肥田朋子、榊原拓哉、冲向雄也、他 7 名、
1 番目、関節不動化による関節可動域制限と疼痛発生に対するストレッチングの効果、名古屋大学論集医学・健康科学・スポーツ科学篇、査読有、2、1-9、2013
K Hayashi, S Shiozawa, N Ozaki, K Mizumura, and T Graven-Nielsen.
Repeated intramuscular injections of nerve growth factor induced progressive muscle hyperalgesia, facilitated temporal summation and expanded pain areas. *Pain* 査読有、154: 2344-2352, 2013.
DOI: 10.1016/j.pain.2013.07.007.
T Nishigami, Y Osako, M Ikeuchi, K Yuri, T Ushida: Development of heat hyperalgesia and changes of TRPV1 and NGF expression in rat dorsal root ganglion following joint immobilization. *Physiol Res*. 査読有、2013, 62(2):215-9
H Urai, S Murase, K Mizumura: Decreased NGF upregulation is a mechanism for reduced hyperalgesia after the second bout of exercise in rats. *J Med Sci Sports* 査読有、23: e96-101, 2013
K Hayashi, K Mizumura, et al
Involvement of NGF in the rat model of persistent muscle pain associated with taut band. *J Pain* 査読有、12: 1059-68, 2011

〔学会発表〕(計 14 件)

松沢匠、谷口誠基、飯田圭紀、肥田朋子、
他 3 名(7 番目)、不動に伴う疼痛発生に対する運動の効果 ラットを用いた自由運動での検討、第 48 回日本理学療法学会大会 2013 年 05 月 24 日~2013 年 05 月 26 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)
T Koeda, T Nishigami, K Mizumura、他 7 名、Effects of stretching on pain development in cast immobilized rats. 14th World Congress on Pain, 2012 年 8 月 27 日~9 月 2 日、ミラノ国際会議場(イタリア、ミラノ)
中村浩輔、酒井成輝、水野奈緒、肥田朋子、
不動化に陥る前の運動が疼痛発生に及ぼす影響 - ラットを用いたトレッドミル走での検討 -、第 47 回日本理学療法学会大会 2012 年 05 月 23 日~2013 年 05 月 25 日、神戸国際会議場(兵庫県神戸市)
榊原拓哉、西上智彦、肥田朋子、他 6 名、
運動が不動化で発生する痛みに及ぼす効果は? - モデルラットを用いての検討
第 46 回日本理学療法学会大会 2011 年 05 月 27 日~2013 年 05 月 29 日、シーガイアコンベンションセンター(宮崎県宮崎市)

冲向雄也、肥田朋子、他 6 名、不動化に伴う筋萎縮は疼痛発生に影響を与えているか - モデル動物に対する萎縮抑制介入から探る -、第 46 回日本理学療法学会大会 2011 年 05 月 27 日~2013 年 05 月 29 日、シーガイアコンベンションセンター(宮崎県宮崎市)

〔図書〕(計 4 件)

T Taguchi, K Mizumura、Chapter 4. Analysis of nociceptors with muscle- and visceral-nerve preparations in vitro. In: *Pain models - translational relevance and applications*, eds H.O Handwerker, L.Arendt-Nielsen, 450 頁、pp47-60. IASP press, 2013
水村和枝、9 - 4 皮膚感覚、新訂生理学実習書、日本生理学会教育委員会監修、南江堂、2013、296 頁、pp. 180-186
青木一治、肥田朋子、第 3 章 物理療法の適応と禁忌、物理療法学テキスト 改訂第 2 版、2012、398 頁、pp.27-41

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ngu-kenkyu-db.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

肥田 朋子 (KOEDA Tomoko)

名古屋学院大学・リハビリテーション学部・教授

研究者番号：20223050

(2) 研究分担者

水村 和枝 (MIZUMURA Kazue)

中部大学・生命健康科学部・教授

研究者番号：00109349

西上 智彦 (NISHIGAMI Tomohiko)

甲南女子大学・看護リハビリテーション学部・准教授

研究者番号：60515691

(3) 連携研究者

()

研究者番号：