

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293169

研究課題名(和文) 自然免疫を基軸としたウイルス性肝炎治療抵抗性機序の解明と新規治療法の創成

研究課題名(英文) Innate immunity and treatment response in chronic viral hepatitis

研究代表者

朝比奈 靖浩 (Asahina, Yasuhiro)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・寄附講座教授

研究者番号：00422692

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：C型肝炎治療不応例では、肝内のIFN誘導遺伝子(ISGs)はむしろ高発現しているが、特にIFN α 4を肝内に発現している症例では有意に治療抵抗性となる。その機序として、IFN α 4はISGsを誘導するが、外因性IFNに対するISGsの誘導能を低下させ、ウイルス減衰が抑制されることが明らかとなった。IL28B SNPのリスク・アリルにおいて発現するIFN α 4が治療不応性と密接に関連することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Interferon (IFN) α 4 plays an important role in innate immunity to protect against hepatitis C viral (HCV) infection. However, the impact of IFN α 4 on chronic hepatitis C (CHC) is unknown. We aimed to investigate the mechanism underlying responsiveness to IFN-based therapy in CHC associated with SNPs near IL28B. Intrahepatic expressions of ISGs were significantly up-regulated in nonvirological responders (NRs). IFN α 4 expression was associated with lower IL28B induction in patients with IL28B-unfavorable genotype ($p = 0.04$) and non-response to IFN α 4 therapy ($p = 0.003$). Overexpression of IFN α 4 suppressed IL28B induction and promoter activation. These results suggest that impaired induction of IL28B, related to IFN α 4 expression, is associated with non-response to IFN α 4-based therapy.

研究分野：消化器内科学

キーワード：HCV IFN α 4 IL28B

1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス(HCV)は国内に依然150万人の慢性感染者が存在し、多くの症例が肝硬変・肝癌に進展する。インターフェロン(IFN)と直接作用型抗HCV薬を併用する新規治療でも宿主IL28B遺伝子調節領域のSNPのリスクアレルに起因するIFN不応例では耐性ウイルスの出現を伴う超難治群となる。従って、ウイルス・宿主因子によるIFN不応性の分子機構の解明とそれに基づいたIFN抵抗性をキャンセルする新たな抗ウイルス療法の開発が急務であった。

HCV排除には宿主自然免疫が重要で、HCV感染は細胞内RIG-Iにより探知されアダプター分子IPS-1を介してI型IFNのIFNとIII型のIFNが発現、その結果多様なIFN誘導遺伝子(ISGs)が誘導され宿主が抗ウイルス状態となる。我々は、治療不応例において治療前肝組織におけるRIG-I依存性自然免疫及び促進系ISGが高発現状態にあることが治療抵抗性に関与していることを示し(Asahina, Gastroenterology 2008)、これにはIL28B SNPが密接に関与し治療効果に関連していることを明らかとした(Asahina, Hepatology 2012)。

以上の知見から自然免疫系とそれにより惹起されるIFN応答系はHCVに対する抗ウイルス反応を司る中心であり、IFN不応性には生体におけるIFN応答を抑制する補助システムが密接に関与することが明らかである。しかし未だその全容は十分に解明されておらず、IL28B SNPと自然免疫が規定するIFN不応性の本質的な機序は不明であった。

2. 研究の目的

本研究は、IL28B SNPと自然免疫が規定するIFN不応性の本質的な機序を解明し、未だ治癒が期待できない難治例に対するIFN不応性をキャンセルする新規治療法創出と知的基盤を築くことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 肝組織におけるIFN不応性に関わる宿主因子の探索: HCV感染の主座であるC型肝炎患者の肝組織を用いて自然免疫/IFN応答に関わる遺伝子発現プロファイルを解析した。特にIFNシグナルを促進的あるいは抑制的に制御すると考えられるISGs、IFN受容体であるIFNAR1、IFNAR2、IL28RA、IL10Bに注目し遺伝子発現を解析した。また、IL28B遺伝子近傍のSNPと連鎖する多型のマイナーアレル症例のみで創生される新規遺伝子IFN4遺伝子の発現と治療効果との関連を明らかとするために、高感度検出系を開発し、IFN4の肝内発現と治療効果を解析した。

(2) 末梢血単核球(PBMC)におけるIFN不応性に関わる宿主因子の探索: C型慢性肝炎患者において、免疫担当細胞であるPBMCにおけるIL28BおよびIFN4発現とIFN治療応答性の関連について検討するために、IFN

+poly I:C刺激時と無刺激時のIFN発現と自然免疫関連分子発現をRT-qPCRおよびRT-PCRにて解析し、前治療効果(Virological Responder(VR) vs NR)との関連を検討した。(3) IFN4がIFN不応性に関わる機序の検討: IFN4の治療抵抗性に関わる機序を解明するために、IFN4(p179)およびその他のsplicing variantであるp107、p131、p170、p143、p124のプラスミド・シリーズを用いたIFN4強制発現系でのin vitro解析を行った。

4. 研究成果

(1) 肝組織におけるIFN不応性に関わる宿主因子の探索: 治療不応例ではIFNシグナルを促進的に制御するISGsであるISG15、Mx1、RIGIの肝組織における高発現と、反対に抑制系遺伝子であるRNF125、SOCS1の低発現を認め、IFNシグナルの促進系の高発現状態に加えて、IFN抑制系はむしろ低発現しており、治療不応例では治療前にIFN抑制系が抑制されているにも関わらずIFN応答性が不良となることが明らかとなった。また、I型IFN受容体であるIFNAR1、IFNAR2は不応例で低発現であったが、III型IFN受容体では、ヘテロダイマーを形成するIL10RBは低発現であったが、III型受容体に特異的なIL28RAは不応例で高発現しており、III型IFN(IFN λ)のシグナル伝達が治療効果に関連している可能性が示唆された。一方、III型IFNとして新規に発見されたIFN4はIL28B SNPのマイナーアレルの症例のみに発現し治療不応性に関与していた。

(2) 末梢血単核球(PBMC)におけるIFN不応性に関わる宿主因子の探索: IFN+poly I:C無刺激時のIL28B発現レベルはIL28B SNPおよび治療効果との関連を認めなかったが、IFN+poly I:C刺激によるIL28Bの発現誘導は前治療NR群が再燃例に比して有意にIL28B誘導が低値であり、SNPに関わらずNR群はVR群に比べ有意に低値であった。またIL28B minor群のうち12名でPBMC中にIFN4 mRNAの発現が認められ、うち7名では無刺激時のPBMCに発現が認められた。そこで、IL28B minor群のうち、無刺激のPBMC中にIFN4発現が検出された群(n=7)と非検出群(n=19)でIL28B発現誘導を比較したところ、IFN4検出群で有意にIL28B発現誘導が低値であり(p=0.04)、IFN4発現は治療不応性と関連していた。従って、PBMC中のIL28Bの発現誘導能はIFN治療応答性を規定すると考えられ、PBMCに発現するIFN4はIFN不応性機序へ関与することが示唆された。

(3) IFN4がIFN不応性に関わる機序の検討: Huh751におけるp179の強制発現によりISG15が誘導されたが、他のsplicing variantではISG誘導は見られなかった。一方、p179を強制発現後にIFN刺激によるISGの誘導能を評価したところ、p179の存在下でISG誘導の減弱が見られた。また、同様の検

討を HCV レプリコン細胞で行ったところ、p179 の強制発現単独でレプリコン活性の低下が見られたが、IFN 刺激時の HCV 減衰は p179 存在下の方が弱かった。in vitro において、自然免疫シグナルによる IFN 3 転写活性化能を IFN 4 の存在下・非存在下で検討したところ、p179 の共発現による IFN 4 の存在下では IRF7 が誘導する IFN 3 転写活性の上昇は有意に抑制された。これらのことから、IL28B SNP のリスク・アリルにおいて発現する IFN 4 (p179) は ISG を誘導する活性を有するが、外因性の IFN による ISG 誘導及び抗 HCV 効果を減弱することが、治療不応性と関連すると考えられた。

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 31 件)

1. Asahina Y (他 13 名、1 番目): JSH Guidelines for the Management of Hepatitis C Virus Infection: A 2016 update for genotype 1 and 2. *Hepatol Res* 2016; 46: 129-165. doi: 10.1111/hepr.12645. 査読有
2. Asahina Y and Watanabe M: Need for appropriate programs for prevention of hepatitis B infection: lessons from the latest nationwide survey in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31: 12-13. doi: 10.1111/jgh.13157. 査読有
3. Taniguchi M, Nakagawa M, Kakinuma S, Asahina Y (他 15 名、3 番目、17 番目、18 番目): Evaluation of Interferon Resistance in Newly Established Genotype 1b Hepatitis C Virus Cell Culture System. *J Clin Transl Hepatol* 2016 Mar 28;4(1):5-11. doi: 10.14218/JCTH.2015.00047. 査読有
4. Otani S, Kakinuma S, Nakagawa M, Asahina Y (他 17 名、2 番目、14 番目、16 番目): Matrix Metalloproteinase-14 Mediates Formation of Bile Ducts and Hepatic Maturation of Fetal Hepatic Progenitor Cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2016 Jan 22;469(4):1062-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.12.105. 査読有
5. Kawai-Kitahata F, Asahina Y, Kakinuma S, Nakagawa M (他 20 名、2 番目、4 番目、17 番目): Comprehensive analyses of mutations and hepatitis B virus integration in hepatocellular carcinoma with clinicopathological features. *J Gastroenterol* 2016 May;51(5):473-86. doi: 10.1007/s00535-015-1126-4. 査読有
6. Tamaki N, Asahina Y (他 13 名、14 番目): Genetic polymorphisms of IL28B and PNPLA3 are predictive for HCV related rapid fibrosis progression and identify patients who require urgent antiviral treatment with new regimens. *PLoS One* 2015 Sep 9;10(9):e0137351. doi: 10.1371/journal.pone.0137351. 査読有
7. Tasaka-Fujita M, Asahina Y (他 12 名、10 番目): Amino acid 1 polymorphisms in hepatitis C virus core affect infectious virus production and major histocompatibility complex class I molecule expression. *Sci Rep* 2015; 5: 13994. doi: 10.1038/srep13994. 査読有
8. Azuma S, Asahina Y, Kakinuma S, Nakagawa M (他 12 名、2 番目、4 番目、15 番目): Efficacy of additional radiofrequency ablation after transcatheter arterial chemoembolization for intermediate hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2016; 46(4): 312-9. doi: 10.1111/hepr.12566. 査読有
9. Murakawa M, Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他 12 名、2 番目、15 番目): Impaired induction of IL28B and expression of IFNλ4 associated with non-response to interferon-based therapy in chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30(6):1075-1084. doi: 10.1111/jgh.12902. 査読有
10. Asahina Y (他 14 名、1 番目): JSH guidelines for the management of hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2014; 44: 1-58. 査読有
11. Asahina Y (他 14 名、1 番目): JSH guidelines for the management of hepatitis C virus infection: a 2014 update for genotype 1. *Hepatol Res* 2014; 44: 59-70. 査読有
12. Tsuchiya K*, Asahina Y* * These authors contributed equally to this study(他 17 名、2 番目): Changes in plasma vascular endothelial growth factor at 8 weeks after sorafenib administration as predictors of survival for advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2014; 120: 229-237. 査読有
13. Tsuchiya K, Asahina Y (他 9 名、2 番目): Risk factors for exceeding the Milan criteria after successful radiofrequency ablation in patients with early stage hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl*

- 2014; 20:291–297. 査読有
14. Yasui Y, Asahina Y (他14名、16番目): Reduced organic anion transporter expression is a risk factor for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients: A propensity score matching study. *Oncology* 2014; 86: 53–62. 査読有
 15. Suda G, Nakagawa M, Asahina Y (他20名、21番目、22番目): Serum granulysin levels as a predictor of serious telaprevir-induced dermatological reactions. *Hepatology* 2015; 45(8): 837–845. doi: 10.1111/hepr.12421. 査読有
 16. Nishida N, Asahina Y (他41名、15番目): New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One* 2014; 9: e86449. 査読有
 17. Nakanishi H, Asahina Y (他13名、12番目): Impaired brain activity in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy: evaluation by near infrared spectroscopy. *Hepatology* 2014; 44: 319–326. 査読有
 18. Komatsu N, Asahina Y (他19名、16番目): Hepatocellular carcinoma risk assessment using gadoxetic acid-enhanced hepatocyte phase magnetic resonance imaging. *Hepatology* 2014; 44(13):1339–1346. doi: 10.1111/hepr.12309. 査読有
 19. Tamaki N, Asahina Y (他17名、18番目): Prospective comparison of real-time tissue elastography and serum fibrosis markers for the estimation of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology* 2014; 44: 720–727. 査読有
 20. Asahina Y*, Nakagawa M, Kakinuma S, *Corresponding author (他15名、1番目、15番目、16番目): Genetic variation near interleukin 28B and the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2014; 49:1152–1162. 査読有
 21. Asahina Y*, Nakagawa M, Kakinuma S, *Corresponding author (他14名、1番目、15番目、16番目): α -fetoprotein levels after interferon therapy and risk of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2013; 58: 1253–1262. 査読有
 22. Asahina Y: editors of the Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines. (他10名、1番目): Guidelines for the Management of Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology* 2013; 43: 1–34. 査読有
 23. Izumi N, Asahina Y (他21名、2番目): Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFN α -2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study. *J Gastroenterol* 2013; 48: 382–390. 査読有
 24. Nitta S, Nakagawa M, Kakinuma S, Asahina Y (他11名、3番目、4番目、12番目): Hepatitis C virus NS4B protein targets STING and abrogates RIG-I-mediated type-I interferon-dependent innate immunity. *Hepatology* 2013; 57: 46–58. 査読有
 25. Kiyohashi K, Kakinuma S, Nakagawa M, Asahina Y (他15名、2番目、14番目、15番目): Wnt5a signaling mediates biliary differentiation of fetal hepatic stem/progenitor cells in mice. *Hepatology* 2013; 57: 2502–2513, 2013. 査読有
 26. Toyota J, Asahina Y (他12名、4番目): Virologic response and safety of 24-week telaprevir alone in Japanese patients infected with hepatitis C virus subtype 1b. *J Viral Hepat* 2013; 20: 167–173. 査読有
 27. Tamaki N, Asahina Y (他12名、13番目): Noninvasive estimation of fibrosis progression overtime using the FIB-4 index in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2013; 20: 72–76. 査読有
 28. Kurosaki M, Asahina Y, Nakagawa M (他11名、7番目、8番目): Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol* 2013; 85: 449–458. (IF = 2.373) 査読有
 29. Tamaki N, Asahina Y (他12名、13番目): Noninvasive prediction of hepatocellular carcinoma development using serum fibrosis marker in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol* 2014; 49:

1495–1503. 査読有

30. Sato A, Asahina Y (他24名、6番目) : Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan. Intern Med 2013; 52: 2701–2706. 査読有
31. Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S, Watanabe M: Polymorphism near the interleukin 28B gene and anti-hepatitis C viral response. J Clin Transl Hepatol 2013; 1: 39-44. 査読有

[学会発表](計20件)

1. Asahina Y: Hepatocarcinogenesis after hepatitis C viral eradication. The 10th APASL Single Topic Conference. June-8, 2016. Kaoshiung, Taiwan 招待講演
2. Kaneko S, Kakinuma S, Asahina Y, Nakagawa M (他13名、2番目、3番目、15番目) : A model for interaction between HBV and host cells derived from human induced pluripotent stem cells. 25th conference of the The 51th annual meeting of the European association for the study of the liver, Barcelona, Spain, April 2016.
3. Kawai-Kitahata F, Asahina Y, Kakinuma S, Nakagawa M (他16名、2番目、4番目、16番目) : Comprehensive analyses of mutations and hepatitis B virus integration in hepatocellular carcinoma. 25th conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. February 20-24, 2016. Tokyo, Japan.
4. Nagata H, Nakagawa M, Kakinuma S, Asahina Y (他6名、3番目、4番目、8番目) : Serial changes in M2BPGi levels as predictors of fibrosis and HCC in chronic hepatitis C. 25th conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. February 20-24, 2016. Tokyo, Japan.
5. Nitta S, Asahina Y, Wakita T, Kato T: In vitro characterization and drug sensitivity analysis for HCV NS5A resistance-associated variants. 25th conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. February 20-24, 2016. Tokyo, Japan.
6. Kaneko S, Kakinuma S, Asahina Y, Nakagawa M (他12名、2番目、3番目、14番目) : Human induce pluripotent stem cell-derived hepatic progenitor-like cells and hepatocyte-like cells as a model for interaction between hepatitis B virus and host cells. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, San Francisco, USA, November 13-17, 2015.
7. Kawai-Kitahata F, Asahina Y, Kakinuma S, Nakagawa M (他14名、2番目、4番目、14番目) : Comprehensive analyses of mutations and hepatitis B virus integration in hepatocellular carcinoma with clinicopathological features. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, San Francisco, USA, November 13-17, 2015.
8. Nitta S, Asahina Y, Wakita T, Kato T: Effects of resistance mutations of NS5A inhibitor on viral production and susceptibility to anti-HCV reagents in recombinant hepatitis C viruses with NS5A of genotype 1b. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, San Francisco, USA, November 13-17, 2015.
9. Murakawa M, Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他10名、2番目、9番目、10番目) : Expression of IFN lambda 4 in liver is closely associated with non-response to antiviral therapy through the regulation of basal expression of ISGs in chronic hepatitis C patients but not in hepatitis B. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, San Francisco, USA, November 13-17, 2015.
10. Watanabe T, Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S, (他8名、2番目、3番目、4番目) : Serial change of resistant associated variants during early phase of NS3/4A triple therapy and the final virological outcome: analyses by ultra-deep sequencing technology. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, San Francisco, USA, November 13-17, 2015.
11. Nagata H, Nakagawa M, Kakinuma S, Asahina Y (他6名、7番目、9番目、10番目) : Variations of the genome and interaction of hepatitis B viral X protein associated with hepatocarcinogenesis. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, San Francisco, USA, November 13-17, 2015.
12. Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他15名、1番目、13番目、14番目) : Gene Alterations in TERT promoter, CTNNB1, and TP53 are closely associated with development and prognosis of hepatocellular carcinoma: comprehensive analyses by next generation sequencing technology. The 50th annual meeting of the European association for the study of the liver, Vienna, Austria, April 2015.
13. Kawai-Kitahata F, Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他12名、2番目、13番目、14番目) : Gene alterations in β -catenin and p53/ cell cycle control pathway are closely associated with development and prognosis of hepatocellular carcinoma: Comprehensive analyses by next generation sequencing technology. The 65th Annual Meeting of the

- American Association for the Study of Liver Disease, Boston, USA, November 7-11, 2014.
14. Nakagawa M, Asahina Y, Kakinuma S. (他 7 名、1 番目、2 番目、8 番目) : Impact of host and therapeutic factors and resistant associated variants on response to interferon based- direct acting antiviral treatment in difficult-to-treat chronic hepatitis C patients. The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, Boston, USA, November 7-11, 2014.
 15. Murakawa M, Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他 7 名、2 番目、3 番目、10 番目) : Expression of IFNL4 in liver and PBMC is closely associated with higher basal expression of ISGs and impaired induction of IL28B by interferon treatment in chronic hepatitis C non-responder patients. The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, Boston, USA, November 7-11, 2014.
 16. Watanabe T, Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他 8 名、2 番目、3 番目、4 番目) : Emergence or selection of resistant associated variant immediately after initiation of the therapy is predictive for failure of direct acting antiviral therapy: ultra-deep sequencing analyses for serial time points. The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, Boston, USA, November 7-11, 2014.
 17. Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他 5 名、1 番目、5 番目、7 番目) : Impaired IL28B gene induction and expression of IFNλ4 influenced by the polymorphisms near IL28B gene are closely associated with a non-response to interferon in chronic hepatitis C patients. The 49th annual meeting of the European association for the study of the liver, London, UK, April 8-14, 2014.
 18. Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S (他 5 名、1 番目、5 番目、7 番目) : Impaired IL28B gene induction and expression of IFNλ4 are closely associated with a non-response to interferon-based therapy in chronic hepatitis C patients. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, Washington DC, USA, November 1-5, 2013.
 19. Tasaka-Fujita M, Asahina Y (他 7 名、5 番目) : Substitution of amino acid 70/91 in the hepatitis C virus core region affects infectious virus production and cell surface expression of MHC class I. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, Washington DC, USA, November 1-5, 2013.
 20. Asahina Y, Nakagawa M, Kakinuma S. (他 12 名、1 番目、2 番目、14 番目) : Serum interleukin-6 levels during treatment correlate

with resistance to telaprevir-based triple therapy in chronic hepatitis C. The 48th annual meeting of the European association for the study of the liver, Amsterdam, Netherlands, April 24-28, 2013.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

朝比奈 靖浩 (ASAHINA, Yasuhiro)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授
研究者番号：00422692

(2) 研究分担者

中川 美奈 (NAKAGAWA, Mina)
東京医科歯科大学・医歯学融合教育支援センター・准教授
研究者番号：30401342

柿沼 晴 (KAKINUMA, Sei)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師
研究者番号：30372444

(3) 連携研究者

()
研究者番号：