

平成 28 年 5 月 10 日現在

機関番号：23803

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670064

研究課題名(和文)新規シアリダーゼプローブを利用したウイルス感染の蛍光イメージング法の開発

研究課題名(英文)Development of fluorescence imaging of virus infection using a new sialidase probe

研究代表者

高橋 忠伸 (TAKAHASHI, Tadanobu)

静岡県立大学・薬学部・准教授

研究者番号：20405145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：インフルエンザA・B型ウイルスや一部のパラインフルエンザウイルスやこれらの感染細胞の表面には「シアリダーゼ」と呼ばれる酵素が発現している。この酵素活性を蛍光イメージングするプローブを開発することで、簡便迅速に感染細胞を蛍光化することに成功した。また、蛍光化された細胞は固定化されていないので、その感染細胞集団からウイルス株を単離することにも成功した。さらに本蛍光イメージングプローブ「BTP3-Neu5Ac」は製品化に成功し、今後の研究や衛生検査の効率化に広く貢献するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Influenza A and B virus and some parainfluenza viruses and their infected cells express an enzyme "sialidase" on their surface membrane. We established easy and rapid method for fluorescent visualization of infected cells by development of fluorescent imaging probe of sialidase activity. Virus strain was directly isolated from a population of fluorescent infected cells with no need of fixation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：シアリダーゼ 蛍光イメージング インフルエンザウイルス パラインフルエンザウイルス ノイラミニダーゼ ヘマグルチニン-ノイラミニダーゼ ウイルス単離 薬剤耐性

1. 研究開始当初の背景

ベンゾチアゾリルフェノール誘導体(BTP)は、結晶固体状態で安定な不溶性の蛍光物質であり、酸性条件下でも強く発光する。紫外線照射により官能基の種類や位置の違いで様々な波長の蛍光を示す。150 nm 以上の大きなストークスシフトから、励起光・細胞組織由来の蛍光の影響を抑制できる。代表者らはBTPの蛍光特性を決定し、これにガラクトース(Gal)を付加したBTP-Galがβ-ガラクトシダーゼの反応量に依存して蛍光量が増大することを確認した(Otsubo T, Minami A, Fujii H, Taguchi R, Takahashi T, *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23, 2245-2249, 2013)。これによりBTPの糖付加体は、その糖を特異的に分解する酵素と反応して不溶性BTPを生成し、それが局所的に沈着することで、糖分解酵素の活性位置を蛍光イメージング可能にするものと予想された。代表者は現在までインフルエンザウイルスやパラインフルエンザウイルスのシアリダーゼを主に研究してきた。そこでBTPの局所染色性を利用して、ウイルスのシアリダーゼ活性を局所的に検出可能な新規蛍光イメージングプローブを開発することにより、特異的な抗ウイルス抗体を必要とせず、ウイルス感染細胞の蛍光化や感染細胞内のウイルスシアリダーゼ活性の局在情報を簡便・迅速に獲得できる画期的技術につながるものと考えた。

2. 研究の目的

インフルエンザウイルスや一部のパラインフルエンザウイルス、これらの感染細胞の表面にはシアリダーゼが発現している。本研究は、ウイルス感染部位または感染細胞内のシアリダーゼ活性を、組織の固定化や抗ウイルス抗体を必要とせず、BTP-Neu5Acを添加するのみの極めて簡便な方法で、短時間で高感度に蛍光イメージングを可能にする画期的技術を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ウイルスおよびウイルス感染細胞の蛍光イメージング：インフルエンザA型、B型ウイルス、パラインフルエンザウイルスのヒトパラインフルエンザウイルス(特に臨床で小児肺炎を起こす血清1型と3型) おたふくかぜウイルス、げっ歯類ウイルスであるセンダイウイルス、鳥類ウイルスであるニューキャッスル病ウイルスの蛍光イメージング条件(BTP-Neu5Acの種類と濃度、温度、反応時間、反応pHおよび緩衝液)を検討する。これらのウイルスシアリダーゼに高感度であり、蛍光特性から蛍光観察が容易なBTP-Neu5Acを選択する。

(2) ウイルス感染マウスの肺組織を用いた感染部位の蛍光イメージング：マウスに感染することが知られているインフルエンザA型ウイルスやセンダイウイルスを、マウスに

経鼻感染させ、数日後の肺組織を摘出する。感染マウスの肺スライスや肺切片をBTP-Neu5Acにより蛍光イメージングする。同時に、肺切片のウイルス抗原部位を抗ウイルス抗体で染色する。免疫化学的に検出される感染部位がBTP-Neu5Acにより蛍光イメージングされることを確認する。

(3) ウイルス株の分離向上技術への応用：ウイルス株の分離は、感染細胞へアガロースゲル培地を重層するプラーク形成法によって行われることが一般的である。一つのウイルスが一つの細胞へ感染すると、周囲の細胞へと感染が拡大し、一つのウイルス株に由来する感染細胞の集団がアポトーシスによりプラーク状に脱落する。このプラークをピペットチップなどでつついてウイルスを附着させ、そのチップを新しい細胞へ添加することで、一つのウイルスに由来するウイルス株として増やすことができる(ウイルス株の分離)。このプラーク数は、感染価の指標としても頻繁に使用されている。しかし、インフルエンザウイルスの臨床株やヒトから分離されたパラインフルエンザウイルスの多くは、細胞死の誘導が起こりにくい(起こらない)ことからプラークが形成されない。そこで、感染細胞に重層したアガロースゲル培地へBTP-Neu5Acを浸透させて、ウイルス感染細胞集団を蛍光イメージングする。蛍光部位からウイルス株の分離ができることを確認する。

4. 研究成果

(1) インフルエンザウイルスの蛍光イメージング：シアリダーゼの蛍光イメージング剤には、最大励起波長 372 nm の紫外線で最大蛍光波長 526 nm の緑色のBTP誘導体であるBTP3を持つ「BTP3-Neu5Ac」を選択した(図1)。蛍光が一般的な緑色蛍光フィルターで観察可能である。Polyvinylidene difluoride (PVDF) 膜上に、トリインフルエンザA型ウイルス A/duck/Hong Kong/313/4/1978 (H5N3)を濃度依存的にバンド状に吸着させてBTP3-Neu5Acを表示濃度で37、10分間又は1時間反応させた。ウイルス濃度に依存したバンド状の蛍光が確認された。この蛍光化が、インフルエンザウイルスのシアリダーゼに特異的であることを確認するため、インフルエンザウイルス特異的シアリダーゼ阻害剤ザナミビル存在下でBTP3-Neu5Acを反応させた。1 μM ザナミビルにより蛍光化は阻害され、BTP3-Neu5Acによる蛍光発色がインフルエンザウイルスのシアリダーゼ活性によるものであることが確認できた(図2)。

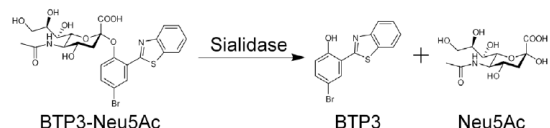


図 1. シアリダーゼ蛍光イメージング剤

「BTP3-Neu5Ac」

水溶性の非蛍光物質 BTP3-Neu5Ac はシアリダーゼによりシアリ酸が外され、水に不溶の蛍光物質 BTP3 となり、酵素活性の存在部位を蛍光イメージングする。

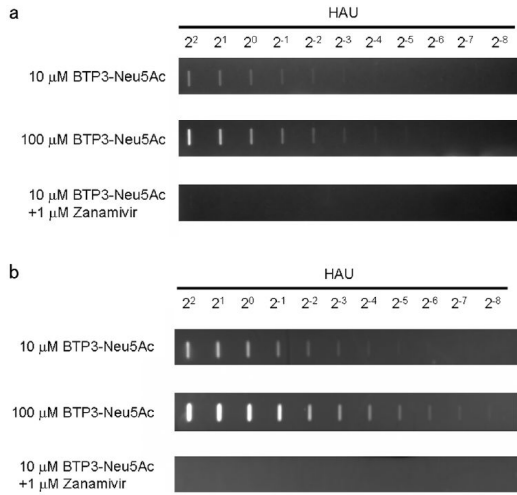


図 2. PVDF 膜に吸着させたインフルエンザ A 型ウイルスの蛍光イメージング

表記の赤血球凝集活性 (HAU) でウイルスを吸着させ、10 又は 100 μ M BTP3-Neu5Ac を添加して 37、10 分間 (a) 又は 1 時間反応させた。紫外線照射下で蛍光像を撮影した。

(2) インフルエンザウイルス感染細胞の蛍光イメージング: 研究成果 (1) のインフルエンザ A 型ウイルス株を濃度を変えてイヌ腎由来 MDCK 細胞に感染させた。37、12 時間後に培養上清を除いて 10 μ M BTP3-Neu5Ac 含有培地に置換した。37 で 10 分間反応後、ウイルス感染量に依存して細胞の蛍光化が見られた (図 3)。この感染細胞の蛍光化はザナミビルで阻害された。細胞の蛍光化は、ウイルス表面タンパク質のノイラミニダーゼ (NA) の抗体染色像とほぼ一致した。NA はシアリダーゼ活性を示す酵素タンパク質である。

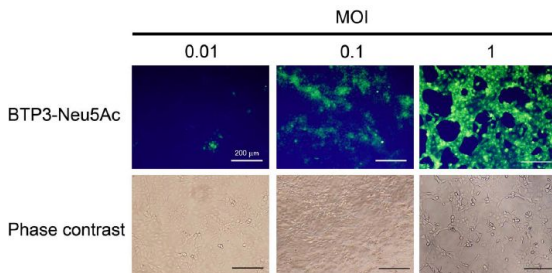


図 3. インフルエンザ A 型ウイルス感染細胞の蛍光イメージング

表記のウイルス感染量 (Multiplicity of infection, MOI) で感染させた MDCK 細胞を 37、12 時間培養した。培養上清を除去し、10 μ M BTP3-Neu5Ac 含有培地に置換した。37 で 10 分間反応後、紫外線照射下で蛍光顕微鏡により観察した。スケールバーは 200 μ m を示す。

(3) 亜型や宿主の異なるインフルエンザウイルス感染細胞又は NA 発現細胞の蛍光イメージング: ヒトインフルエンザ A 型ウイルス A/PR/8/1934 (H1N1)、A/Memphis/1/1971 (H3N2)、パンデミック株 A/Shizuoka/833/2009 (H1N1pdm) とインフルエンザ B 型ウイルス B/Lee/1940 の感染 12 時間後の MDCK 細胞を、10 μ M BTP3-Neu5Ac により 37、10 分間反応させた。すべての細胞で蛍光化が見られた (図 4)。また、パンデミック株 A/Brevig Mission/1/1918 (H1N1)、高病原性トリインフルエンザ A 型ウイルス A/chicken/Shimane/1/2010 (H5N1)、2013 年に中国でヒトに感染したトリインフルエンザ A 型ウイルス A/Anhui/1/2013 (H7N9) の NA 発現 COS7 細胞 (トランスフェクション後 24 時間) においても、BTP3-Neu5Ac の同様な反応により蛍光化が見られた (図 5)。

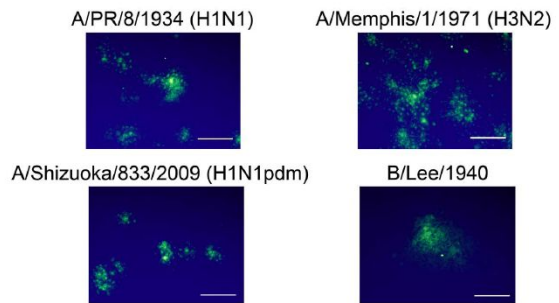


図 4. 亜型の異なるヒトインフルエンザウイルス感染細胞の蛍光イメージング

感染後 12 時間の MDCK 細胞を、10 μ M BTP3-Neu5Ac により 37、10 分間反応させ、紫外線照射下で蛍光顕微鏡により観察した。スケールバーは 200 μ m を示す。

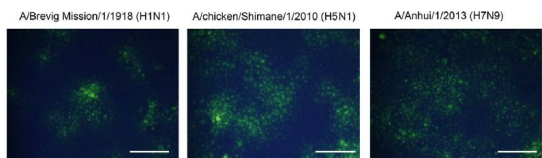


図 5. インフルエンザ A 型ウイルスの NA 発現細胞の蛍光イメージング

哺乳動物細胞発現プラスミドに挿入した各 NA 遺伝子を COS7 細胞にトランスフェクション後、37、24 時間培養した。10 μ M BTP3-Neu5Ac により 37、10 分間反応させ、紫外線照射下で蛍光顕微鏡により観察した。スケールバーは 200 μ m を示す。

(4) インフルエンザウイルス感染細胞内の蛍光イメージング: トリインフルエンザ A 型ウイルス A/duck/Hong Kong/313/4/1978 (H5N3) を MDCK 細胞に感染させ、37、8 時間培養した。4%パラホルムアルデヒドで室温、30 分間固定化し、0.05% TritonX-100 を室温、30 分間で膜透過処理をした。10 μ M BTP3-Neu5Ac で 37、30 分間反応後、細胞を洗浄し、抗 NA モノクローナル抗体で蛍光染色した。BTP3-Neu5Ac 染色と NA 抗体染色ともにゴルジ装置と思われる領域で強く、染

色像もほぼ一致した (図 6)

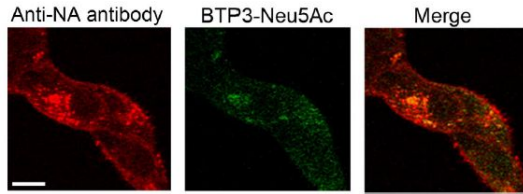


図 6. インフルエンザ A 型ウイルス感染細胞内の蛍光イメージング

感染 8 時間後の MDCK 細胞をパラホルムアルデヒド固定し、TritonX-100 で膜透過処理をした。BTP3-Neu5Ac (緑) 抗 NA 抗体 (赤) で染色した。スケールバーは 10 μ m を示す。

(5) インフルエンザ A 型ウイルス感染動物の組織感染部位の蛍光イメージング : 6 ~ 8 週齢雌性 BALB/c マウスにインフルエンザ A 型ウイルス A/PR/8/1934 (H1N1) を 25 μ l [1×10^7 プラーク形成ユニット (ffu) / ml] で経鼻感染させた。感染 1 日後のマウス肺を 4% パラホルムアルデヒドで室温、10 分間固定した。10 μ m 凍結切片を作成し、4% パラホルムアルデヒドで室温、15 分間固定した。肺切片を洗浄後、20 μ M BTP3-Neu5Ac (1 mM CaCl_2 含有 10 mM 酢酸緩衝液 pH6.0) で 37 $^\circ\text{C}$ 、20 分間反応させた。蛍光顕微鏡下、細気管支と思われる内腔縁領域の蛍光化が見られた。1 μ M ザナミビルにより蛍光化は阻害され、BTP3-Neu5Ac による蛍光発色がインフルエンザウイルスのシアリダーゼ活性によるものであることが確認した (図 7)。

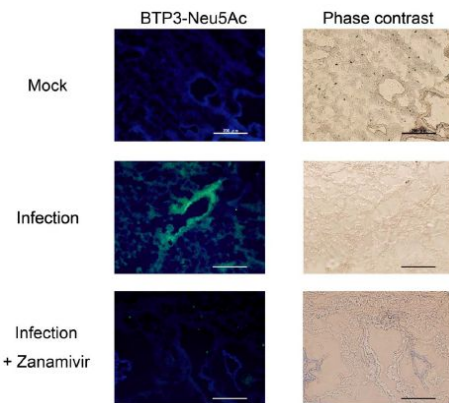


図 7. インフルエンザ A 型ウイルス感染マウス肺組織の感染部位の蛍光イメージング

感染 1 日後のマウス肺切片を 20 μ M BTP3-Neu5Ac で 37 $^\circ\text{C}$ 、20 分間反応させた。感染部位が緑色蛍光化された (中図)。1 μ M ザナミビル存在下で BTP3-Neu5Ac を反応させた (下図)。Mock はウイルス懸濁液の代わりに等張リン酸緩衝液を経鼻的に投与した (上図)。スケールバーは 200 μ m。

(6) ウイルス感染細胞集団 (フォーカス) の蛍光イメージングと蛍光化フォーカスからのウイルス単離 : 実験株 A/WSN/1933 (H1N1) 又は臨床株 A/Shizuoka/833/2009 (H1N1pdm) を感染させた MDCK 細胞に

0.8% アガロース及び 2 μ g/ml アセチルトリプシン含有無血清培地を重層して、2 ~ 3 日間培養した。アガロース含有培地上に 200 μ M BTP3-Neu5Ac を 100 μ l 滴下し、37 $^\circ\text{C}$ で 15 分間反応させた。354 nm のトランスイルミネーター上で、蛍光化されたウイルス感染細胞集団 (フォーカス) を撮影した (図 8)。この蛍光化フォーカスをピックアップすることで、ウイルスを単離することに成功した。

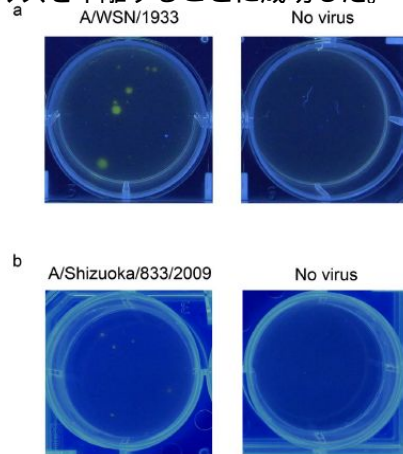


図 8. インフルエンザ A 型ウイルスのフォーカスの蛍光イメージング

A/WSN/1933 (H1N1) (a) 又は A/Shizuoka/833/2009 (H1N1pdm) (b) を感染させた MDCK 細胞にアガロース含有無血清培地を重層して、37 $^\circ\text{C}$ で 2 日間 (a) 又は 3 日間 (b) 培養した。アガロース含有培地上に BTP3-Neu5Ac を 200 μ M BTP3-Neu5Ac を 100 μ l 滴下し、37 $^\circ\text{C}$ で 15 分間反応させた。蛍光化フォーカスからウイルス単離も成功した。

(7) インフルエンザウイルス以外のウイルス感染細胞の蛍光イメージング : げっ歯類病原ウイルスのセンダイウイルス (図 9、図 10)、鳥類病原ウイルスのニューキャッスル病ウイルス (図 11)、小児呼吸器ウイルスのヒトパラインフルエンザウイルス (図 12)、おたふく風邪のムンプスウイルス (図 13) の感染細胞の蛍光イメージングに成功した。ウイルスフォーカスの蛍光化やウイルス単離にも成功した。

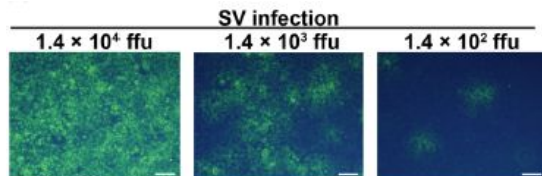


図 9. センダイウイルス感染細胞の蛍光イメージング

示された感染価 (ffu) で、アカゲザル腎由来 LLC-MK2 細胞に感染させ、24 時間培養した。10 μ M BTP3-Neu5Ac (pH 4.5 無血清培地) で 37 $^\circ\text{C}$ 、5 分間反応させた。スケールバーは 100 μ m。

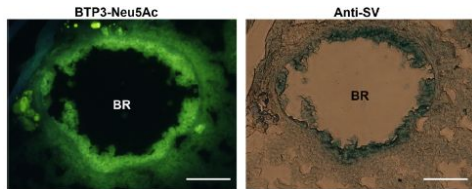


図 10. センダイウイルス感染マウスの肺切片の蛍光イメージング

BR は細気管支と思われる領域。BTP3-Neu5Ac 染色 (左図)、抗 SV 抗体染色 (右図)。スケールバーは 100 μm。

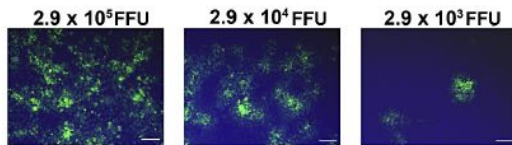


図 11. ニューキャスト病ウイルス (D26 株) 感染細胞の蛍光イメージング

示された感染価 (FFU) で、LLC-MK2 細胞に感染させ、24 時間培養した。10 μM BTP3-Neu5Ac (等張リン酸緩衝液) で室温、5 分間反応させた。スケールバーは 100 μm。

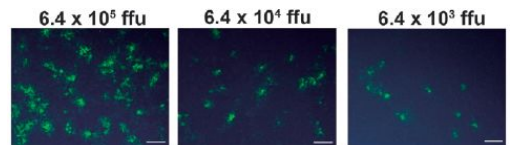


図 12. ヒトパラインフルエンザウイルス (血清 1 型) 感染細胞の蛍光イメージング

示された感染価 (ffu) で、LLC-MK2 細胞に感染させ、24 時間培養した。25 μM BTP3-Neu5Ac (pH 4.5 無血清培地) で 37 °C、5 分間反応させた。スケールバーは 100 μm。

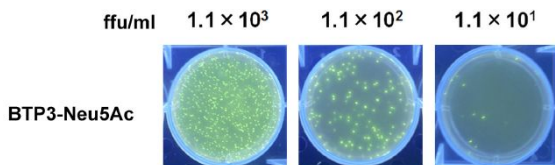


図 13. ムンプスウイルスのフォーカスの蛍光イメージング

示された感染価 (ffu) で、アフリカミドリザル腎由来 Vero 細胞に感染させ、0.5% アガロース含有培地を重層して 96 時間培養した。アガロース含有培地上に 800 μM BTP3-Neu5Ac を 1 ml 滴下し、37 °C、6 時間反応させた。

(8) まとめ: シアリダーゼの蛍光イメージング剤「BTP3-Neu5Ac」を開発した。この試薬は、宿主や亜型 (抗原性) に依存せず、インフルエンザ A 型・B 型ウイルス、センダイウイルス、ニューキャスト病ウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ムンプスウイルス及びそれらの感染細胞を簡便迅速に蛍光イメージングできた。さらに、蛍光化細胞から簡便にウイルス単離も可能である。本試薬は製品化に至り、平成 28 年 1 月から販売が開始されている。今後、本誌試薬は学術研究や衛生検査の効率化に大きく貢献して

いくものと期待される。

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 31 件)

代表的な論文・総説の 5 件を記載

Tadanobu Takahashi, Takashi Agarikuchi, Yuuki Kurebayashi, Nona Shibahara, Chihiro Suzuki, Akiko Kishikawa, Keijo Fukushima, Maiko Takano, Fumie Suzuki, Hirohisa Wada, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Akira Minami, Takashi Suzuki. Easy and Rapid Detection of Mumps Virus by Live Fluorescent Visualization of Virus-Infected Cells. *PLoS One* 10, e0144038 (2015)

doi:10.1371/journal.pone.0144038, 査読有 Tadanobu Takahashi*, Maiko Takano* (*they contributed equally as first authors), Yuuki Kurebayashi, Takashi Agarikuchi, Chihiro Suzuki, Keijo Fukushima, Shunsaku Takahashi, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Akira Minami, Takashi Suzuki. Rapid fluorescent detection assay for human parainfluenza viruses. *Biol. Pharm. Bull.* 38, 1214-1219 (2015)

doi:10.1248/bpb.b15-00298, 査読有 Tadanobu Takahashi, Maiko Takano, Takashi Agarikuchi, Yuuki Kurebayashi, Akira Minami, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Takashi Suzuki. A novel method for detection of Newcastle disease virus with a fluorescent sialidase substrate. *J. Virol. Methods* 209, 136-142 (2014)

doi: 10.1016/j.jviromet.2014.09.010, 査読有 Yuuki Kurebayashi*, Tadanobu Takahashi* (*these authors contributed equally to this work), Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Shunsaku Takahashi, Maiko Takano, Takashi Agarikuchi, Tsubasa Sato, Yukino Matsuda, Akira Minami, Hiroaki Kanazawa, Yuko Uchida, Takehiko Saito, Yoshihiro Kawaoka, Toshihiro Yamada, Fumihiko Kawamori, Robin Thomson, Mark von Itzstein, Takashi Suzuki. Imaging of influenza virus sialidase activity in living cells. *Sci. Rep.* 4, 4877 (2014) doi: 10.1038/srep04877, 査読有

Maiko Takano*, Tadanobu Takahashi* (*they contributed equally as first authors), Takashi Agarikuchi, Yuuki Kurebayashi, Akira Minami, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Hiroaki Kanazawa, Takashi Suzuki. Histochemical fluorescent staining of Sendai virus-infected cells with a novel sialidase substrate. *Virology* 464-465, 206-212 (2014) doi:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2014.04.005>, 査読有

〔学会発表〕(計 80 件)

多数のため代表的な発表 5 件を記載

高橋忠伸: ウイルス感染における糖鎖の機能解明と糖鎖の利用技術の開発、第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2015) ワークショップ「糖鎖を利用した、異物と宿主の生存戦略」(神戸)、2015 年 12 月 3 日 (招待講演)

Tadanobu Takahashi, Functional analysis of glyco-molecules that bind with influenza virus. The 63rd Annual Meeting of the Japanese Society for Virology (Fukuoka) Invited lecture for Sugiura award, November 24, 2015 (招待講演)

高橋忠伸: 糖鎖を利用したウイルスと宿主の生存戦略、糖鎖科学中部拠点 糖鎖科学講義(名古屋)、2015 年 7 月 29 日(招待講演)

Tadanobu Takahashi, Yuuki Kurebayashi, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Shunsaku Takahashi, Maiko Takano, Takashi Agarikuchi, Tsubasa Sato, Yukino Matsuda, Akira Minami, Hiroaki Kanazawa, Yuko Uchida, Takehiko Saito, Yoshihiro Kawaoka, Toshihiro Yamada, Fumihiko Kawamori, Robin Thomson, Mark von Itzstein, Takashi Suzuki. Histochemical Fluorescent Visualization of Influenza Virus Sialidase activity. Program of the 11th Japan-China International Symposium on Health Sciences (Shizuoka), program book, p. 19. November 5, 2014

高橋忠伸: 呼吸器ウイルス感染におけるウイルス糖タンパク質および糖鎖の役割解明、第 33 回日本糖質学会(名古屋)、奨励賞受賞講演、2014 年 8 月 10 日(招待講演)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 新規化合物及び該化合物を含む蛍光組成物

発明者: 鈴木 隆、高橋忠伸、南 彰、池田 潔、大坪忠宗

権利者: 静岡県公立大学法人、学校法人常翔学園

番号: 特願 2015-18871

出願年月日: 2015 年 2 月 2 日

国内外の別: 国内

取得状況(計 1 件)

名称: 抗ウイルス剤

発明者: 堤坂裕子、金原紀章、一谷正己、鈴

木 隆、高橋忠伸

権利者: 株式会社 伊藤園、静岡県公立大学法人

番号: 特許登録番号 5653034

登録年月日: 2014 年 11 月 28 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

受賞(計 18 件) 学生等の協力者含む

多数のため代表者の主な受賞 5 件を記載

高橋忠伸: 日本ウイルス学会 杉浦奨励賞、2015 年 11 月 23 日

高橋忠伸: 静岡県立大学 第一回 学長表彰、2015 年 3 月 23 日

高橋忠伸: 東京バイオマーカー・イノベーション技術研究組合 TOBIRA 奨励賞、2015 年 2 月 2 日

高橋忠伸: (公財)長寿科学振興財団 長寿科学賞、2014 年 11 月 26 日

高橋忠伸: 日本糖質学会 奨励賞、2014 年 8 月 10 日

ホームページ・新聞報道等

「耐性ウイルス判別試薬販売 インフルエンザ 県立大などが研究」、朝日新聞(静岡版)、2016 年 4 月 7 日(木)朝刊

「長寿科学賞に 2 氏」(公財)昭和聖徳記念財団・昭和天皇記念館 新聞『昭和』、2015 年 1 月 10 日(土)

「結果 10 分のインフル試薬」朝日新聞(静岡版)、2014 年 5 月 6 日(火)朝刊
インフルエンザウイルスを光らせる研究用試薬の開発 ウイルスを光らせる試薬開発、製品化(静岡県立大学 HP)、http://www.u-shizuoka-ken.ac.jp/news_topics/news20160325a/index.html

大坪忠宗、池田 潔、南 彰、高橋忠伸、鈴木 隆: 蛍光組織染色が可能なシアリダーゼ蛍光プローブ、和光純薬時報 84 (2), 5-7 (2016)査読無

6. 研究組織

(1)研究代表者

高橋 忠伸 (TAKAHASHI, Tadanobu)
静岡県立大学薬学部・准教授
研究者番号: 20405145

(2)連携研究者

池田 潔 (IKEDA, Kiyoshi)
広島国際大学薬学部・教授
研究者番号: 40168125