

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2010

課題番号：20247010

研究課題名（和文） 脂質性シグナル分子産生酵素のパートナー蛋白質の網羅的探索を基盤とした生理機能解析

研究課題名（英文） Physiological functions of lipid signaling molecule-producing enzymes based on their search of partner proteins

研究代表者

金保 安則 (KANAHO YASUNORI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授

研究者番号：00214437

研究成果の概要（和文）：脂質性シグナル分子産生酵素のPIP5KとPLDの各アイソザイムの生理機能解析を行った。PIP5K γ 661は、海馬神経細胞において、クラスリンアダプター複合体AP-2と相互作用してAMPA受容体のエンドサイトーシスを促進し、長期抑制を誘起することを明らかにした。さらに、PIP5K α とPIP5K β は、精子形成に重要であることを明らかにした。また、PLDは、好中球機能に重要であることが報告されているが、それらの研究結果はアーチファクトである可能性を示唆した。

研究成果の概要（英文）：In this study, the physiological functions of lipid signaling molecule-producing enzymes, PIP5K and PLD, have been investigated. It was found that PIP5K γ 661 is dephosphorylated upon NMDA stimulation of hippocampal neurons, interacts with the adaptor complex AP-2 and stimulates the endocytosis of AMPA receptors, thereby inducing the long-term depression. On the other hand, PIP5K α and PIP5K β were found to regulate spermatogenesis. Lastly, it was suggested that PLD is not involved in the neutrophil functions, such as superoxide generation and enzyme release, although the involvement of PLD in these neutrophil functions have been reported.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	10,700,000	3,210,000	13,910,000
2009年度	9,600,000	2,880,000	12,480,000
2010年度	12,800,000	3,840,000	16,640,000
年度			
年度			
総計	33,100,000	9,930,000	43,030,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：PIP5-キナーゼ、ホスホリパーゼD、アダプター蛋白質、クラスリン依存的エンドサイトーシス、NMDA受容体、長期抑制、好中球、精子形成

1. 研究開始当初の背景

申請者は、脂質性シグナル分子産生酵素であるホスファチジルイノシトール4-リン酸5-キナーゼ（PIP5K）とホスホリパーゼD（PLD）の各アイソザイム特異的な活性調節機構とそれらの生理機能の解明に焦点をあ

てて研究を進めていた。その過程で、一部ではあるが、PIP5Kアイソザイムの上流因子あるいは下流因子として機能するパートナー蛋白質を同定し、パートナー蛋白質の機能からPIP5Kアイソザイムの細胞機能を推察して研究を進めることにより、その解明に成功

している。すなわち、ヒトPIP5Kの三種類のアイソザイム α 、 β 、 γ のうち、PIP5K β の活性化因子として低分子量G蛋白質Arf6を同定し、Arf6が細胞膜ダイナミクスを制御することから、Arf6により活性化されるPIP5K β を介するシグナル伝達系は細胞膜ダイナミクスを制御するものと推測して研究を進めた結果、この脂質性シグナル伝達系は非神経細胞において細胞運動に必須の構造体であるラッフル膜の形成に重要な役割を果たしていること (*Cell* **99**, 521-532, 1999)、神経細胞においてはArf6が別のPIP5KアイソザイムであるPIP5K α の活性化因子として機能して、後シナプスのスパイン形態を制御すること (未発表データ)、また、神経細胞において、クラスリン依存性エンドサイトーシスに関与するアダプター蛋白質AP-2複合体がPIP5K γ のスプライシングバリエントの一つであるPIP5K γ 661の上流で活性化因子として機能すると同時に、下流因子としても機能することを見だし、この脂質性シグナル伝達系は神経細胞においてシナプス小胞のエンドサイトーシスに重要な役割を果たしていることを明らかにした (*EMBO J.* **26**, 1105-1116, 2007)。このように、申請者は、脂質性シグナル分子産生酵素のパートナー蛋白質を同定することにより、脂質性シグナル分子産生酵素の各アイソザイムやスプライシングバリエント特異的な生理機能の解明に成功しつつあった。この戦略を用いて解析を進めることにより、上記二種類の脂質性シグナル分子産生酵素PIP5KとPLDのそれぞれのアイソザイムとスプライシングバリエントに特有の活性調節機構と生理機能を解明できることが期待され、脂質性シグナル伝達系における分子多様性の意義を理解することが可能となる。

また、蛋白質・酵素の生理機能解析においては、ノックアウト (KO) マウスの作製とその表現型の解析が非常に有用な解析方法となる。上記のパートナー蛋白質の探索とそれを基盤とした生理機能解析に加えて、PIP5KとPLDの各アイソザイムのKOマウスの作製とそれらの表現型解析を行うことにより、これらの分子の生理機能に対する理解を深めることが出来る。

このような研究成果背景のもとに、本研究では、「パートナー蛋白質の探索とそれを基盤とした生理機能解析」と「KOマウスの作製と表現型解析」の2つの戦略を並列して進行させたPIP5KとPLDの機能解析を計画するに至った。

2. 研究の目的

シグナル伝達は生命の恒常性維持や発生に必須の細胞現象であり、シグナル伝達を制御する分子の活性制御機構と生理機能の解明は、

生命現象の理解を深めて、疾病の発症メカニズムの解明や創薬、治療法、診断法の開発に繋がる極めて重要な研究課題として位置づけられている。申請者は、細胞内でリン脂質代謝酵素によって産生される細胞膜リン脂質代謝産物がシグナル分子として機能する“脂質性シグナル伝達系”についての研究を進めている。特に、多彩な機能を持つ脂質性シグナル分子ホスファチジルイノシトール4,5-二リン酸 (PIP₂) の産生酵素PIP5Kと、脂質性シグナル分子として認識されているホスファチジン酸 (PA) の産生酵素PLDの二種類の脂質性シグナル分子産生酵素を介する脂質性シグナル伝達系の生理機能を解析している。これらの脂質性シグナル分子産生酵素には分子多様性があり、ほ乳類PIP5Kには α 、 β 、 γ アイソザイムとPIP5K γ 635、PIP5K γ 661、PIP5K γ 687スプライシングバリエント、およびほ乳類PLDについては、PLD1とPLD2アイソザイムおよびPLD1aとPLD1bスプライシングバリエントが存在する。これらのアイソザイムやスプライシングバリエントのそれぞれがどのような細胞生理機能を制御して個体レベルでの生理機能をどのように役割分担しているのかは不明であり、その解明は重要課題となっている。この点を解明することにより、脂質性シグナル分子産生酵素の分子多様性の意義を総括的に理解することが可能となり、脂質性シグナル伝達系の破綻に起因した疾病を発見できることが期待できる。

申請者はこれまでに、一部のPIP5Kアイソザイムのパートナー蛋白質を同定して、その機能から脂質性シグナル伝達系の生理機能を推測して解析を進めることにより、その解明に成功している (*Cell* **99**, 521-532, 1999; *EMBO J.* **26**, 1105-1116, 2007) (上記「1. 研究開始当初の背景」を参照)。このように、シグナル伝達系の鍵分子に対するパートナー蛋白質の同定をきっかけに、鍵分子の生理機能を解明することが可能となる。しかしながら、これまでから酵母two-hybrid法やシグナル伝達系鍵分子を固定化したアフィニティーカラムを用いたパートナー蛋白質の探索が行われているが、これらの方法によって同定された蛋白質は必ずしも生理的なパートナー蛋白質であるという保証はなく、確実に生理的に意義のあるパートナー蛋白質を探索・同定する方法が望まれる。この点をブレイクスルーする最良の方法は、アゴニスト刺激依存的に内在性シグナル伝達系鍵分子と相互作用する蛋白質を検出できるアッセイ系を確立し、それを用いて解析することである。

従って本研究では、上記二種類の脂質性シグナル分子産生酵素のアイソザイムとスプライシングバリエントの生理的パートナー蛋白質を探索・同定し、その結果を基盤

とした新たな視点から、脂質性シグナル伝達系の分子機構と生理機能を解明し、脂質性シグナル分子産生酵素の分子多様性の意義を明らかにする(図)。また、個体レベルでの脂質性シグナル伝達系の生理機能やその破綻と疾患との関連性を明らかにすることを目的として、上記の脂質性シグナル分子産生酵素の遺伝子KOマウスを作製し、その解析を行う(図)。

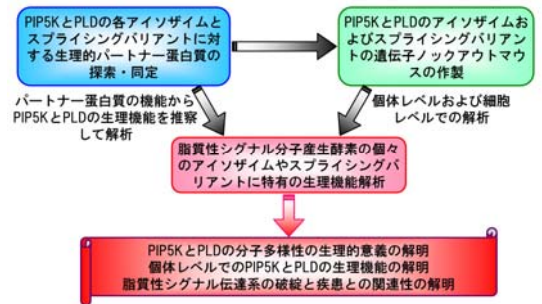


図:本研究のストラテジー

3. 研究の方法

(1) PIP5KとPLDの生理的パートナー蛋白質の探索・同定とそれを基盤とした生理機能解析

各種の動物細胞をアゴニストで刺激した後、PIP5KとPLDの各アイソザイム特異的抗体アフィニティービーズを用いて内在性PIP5KとPLDの各アイソザイムあるいはスプライシングバリエーションを免疫沈降する。ここで沈降した蛋白質をwestern blottingあるいは質量分析により同定する。

脂質性シグナル分子産生酵素あるいはそれらに直接結合するパートナー蛋白質の相互作用領域を細胞内に過剰発現させると、発現させた相互作用領域が内在性の相手蛋白質に結合するために、内在性の脂質性シグナル分子産生酵素とパートナー蛋白質の相互作用が阻害されるはずである。従って、これらの分子の相互作用領域は、脂質性シグナル伝達系が制御する細胞生理機能を解析するための有益なツールとなる。そこで、脂質性シグナル分子産生酵素とそれらのパートナー蛋白質の相互作用領域を決定し、その相互作用領域ペプチドを細胞に過剰発現させた場合に変化する細胞機能を解析することにより、脂質性シグナル伝達系が制御する細胞機能を解明する。

(2) PIP5KとPLD KOマウスの作製と解析

定法に従って、PIP5KとPLDの各アイソザイム遺伝子KOマウスを作製する。これらのKOマウスの個体全体や各組織の観察により、PIP5KとPLDの各アイソザイムに特異的な生理機能を考察する。さらには、これらの脂質性シグナル分子産生酵素の各アイソザイム

のダブルノックアウトマウス(D-KO)を作製し、同様にそれらの表現型を解析し、分子多様性の意義を考察する。

4. 研究成果

(1) 海馬神経細胞後シナプスでのPIP5K γ 661の生理機能

哺乳類PIP5Kには α 、 β 、 γ の三種類のアイソザイムが存在し、PIP5K γ には γ 635、 γ 661、 γ 687の三種類のスプライシングバリエーションが同定されている。これらのうち、PIP5K γ 661は脳・神経系に特異的に発現している。申請者は以前、PIP5K γ 661はマウス海馬神経細胞の前シナプスにおいて、クラスリンアダプター蛋白質のAP-2と相互作用して、シナプス小胞のクラスリン依存的エンドサイトーシスを制御することを報告した(EMBO J. 26, 1105-1116, 2007)。本研究では、マウス海馬神経細胞の後シナプスのスパインにおける役割を解析した。その結果、AP-2アダプター分子の特異的抗体を用いたwestern blotting解析により、PIP5K γ 661は、マウス海馬神経細胞の後シナプスのスパインにおいても、NMDA刺激に伴って脱リン酸化されてクラスリンアダプター蛋白質のAP-2と相互作用することを明らかにした。さらには、AP-2との相互作用により、PIP5K γ 661は顕著に活性化されることを見いだした。AP-2との相互作用は、PIP5K γ 661のC末端側26アミノ酸領域(PIP5K γ 661-C)が重要であり、この領域のSer645が脱リン酸化されることを解明した。また、NMDA刺激によりAMPA受容体のエンドサイトーシスが促進され長期抑制が誘起されるが、これらの現象は、疑似脱リン酸化PIP5K γ 661-Cを海馬神経細胞に過剰発現して内在性のPIP5K γ 661とAP-2の相互作用を阻害することにより抑制された。

これらの知見から、海馬神経細胞のスパインにおいて、PIP5K γ 661はNMDA刺激により脱リン酸化されてAP-2と相互作用することにより活性化され、スパインの細胞膜局所でPIP₂を産生することによりAMPA受容体のクラスリン依存的エンドサイトーシスを促進して長期抑制を誘起するという、新たな長期抑制誘導メカニズムを提唱した。

(2) 精子形成におけるPIP5Kの役割

個体レベルにおけるPIP5K α およびPIP5K β の生理機能を解明するために、PIP5K α とPIP5K β のKOマウス、および両者のD-KOを作製し、それらの表現型解析を行った。交配実験の結果、PIP5K α およびPIP5K β -KO雄マウスは生殖能力が減弱した低妊孕能であり、D-KO雄マウスは完全に不妊であることが明らかとなった。野生型精巢の抗体染色により、PIP5K α とPIP5K β は共にSertoli細胞と伸長精子細胞に発現していることが分かった。D-KOマウス精巢切片所見から、D-KOマウス

においては伸長精子細胞数が少なく、その結果、精子数が減少していることが明らかとなった。一方、精祖細胞や精母細胞の数には異常は見られなかった。また、D-KOマウスではSertoli細胞と伸長精子細胞の細胞間接着部位でのF-actinの集積が低く、精細管腔内に異常なF-actinの集積が見られたことから、PIP5K α とPIP5K β の欠損によりアクチン細胞骨格系が調節不全となり、伸長精子細胞が脱落していると考えられた。D-KOマウスの精子は中片部と尾部の形態に異常を呈するとともに、運動能力も減弱しており、体外受精が不可能であった。PIP5K α -KOマウスの精子中片部も同様の形態異常を示すが、その表現系はD-KOマウスに比べれば軽微であった。一方、PIP5K β -KOマウスの精子には顕著な異常は見られなかった。これらの結果から、PIP5K α およびPIP5K β が協調して精子形成を制御していることが明らかとなった。

(3)PLDアイソザイムの好中球機能への関与

好中球はバクテリア侵入などに対する生体防御反応を担う重要な細胞であり、活性酸素産生や酵素放出反応によりその役割を果たしている。これらの好中球機能は、これまでに、PLDを介したシグナル伝達系により制御されることが細胞レベルで示されている。しかしながら、これらの結果は、PLDによるphosphatidylcholineの加水分解反応を阻害する一級アルコールを用いた解析によるものであり、その結果に多くの疑問が残されている。そこで申請者は、PLD 1-とPLD2-KOマウスおよびD-KOマウスを作製し、これらのマウスから調製した好中球を用いて活性酸素産生や酵素放出反応におけるPLDの関与を解析した。

PLD 1-とPLD2-KOマウスおよびD-KOマウスから調製した好中球を用いて、fMLP刺激依存的な活性酸素産生と酵素放出反応を検討した結果、予想に反し、これらすべての好中球において野生型好中球と同程度の反応が見られた。また、一級アルコールにより、すべてのマウスから調製した好中球の機能が阻害された。これらのことから、一級アルコールはPLD以外の機能を阻害するside effectを持つことが明らかとなり、さらには、既存の報告とは異なり、PLDがこれら好中球機能に関わっていないことが示唆された。

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 16 件)

- 1 Funakoshi Y., Hasegawa H. and Kanaho Y. Regulation of PIP5K activity by Arf6 and its physiological significance. *J. Cell. Physiol.* **226**, 888-895 (2011)査読有
- 2 Huang P., Yeku O., Zong H., Tsang P., Su W., Yu X., Teng S., Osisami M, Kanaho Y., Pessin J. and Frohman MA. Phosphatidylinositol-4-Phosphate-5-Kinase alpha Deficiency Alters Dynamics of Glucose-Stimulated Insulin Release to Improve Glucohomeostasis and Decrease Obesity in Mice. *Diabetes* **60**, 454-463 (2011)査読有
- 3 Akiyama M., Zhou M., Sugimoto R., Hongu T., Furuya M., Funakoshi Y., Kato M., Hasegawa H. and Kanaho Y. Tissue- and Development-Dependent Expression of the Small GTPase Arf6 in Mice. *Dev. Dyn.* **239**, 3416-3436 (2010)査読有
- 4 Akieda-Asai S., Zaima N., Ikegami K., Kahyo T., Yao I., Hatanaka T., Iemura S., Sugiyama R., Yokozeki T., Eishi Y., Koike M., Ikeda K., Chiba T., Yamaza H., Shinokawa I., Song SY., Matsuno A., Mizutani A., Sawabe M., Chao MV., Tanaka M., Kanaho Y., Natsume T., Sugimura H., Date Y., McBurney MW., Guarente L. and Setou M. SIRT1 regulates thyroid-stimulated hormone release by enhancing PIP5Kgamma activity through deacylation of specific lysine residues in mammals. *PLoS One* **5**, e11766 (2010)査読有
- 5 Volpicelli-Daley LA., Lucast L., Gong LW., Sasaki J., Sasaki T., Abrams CS., Kanaho Y. and De Camilli P. Phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinases and phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate synthesis in the brain. *J. Biol. Chem.* **285**, 28708-28714 (2010)査読有
- 6 Suzuki A., Arikawa C., Kuwahara Y., Itoh K., Watanabe M., Watanabe H., Suzuki T., Funakoshi Y., Hasegawa H., and Kanaho Y. The scaffold protein JIP3 functions as a downstream effector of the small GTPase ARF6 to regulate neurite morphogenesis of cortical neurons. *FEBS Lett.* **584**, 2801-2806 (2010)査読有
- 7 Itoh T., Hasegawa J., Tsujita K., Kanaho Y. and Takenawa T. The tyrosine kinase Fer is a downstream target of the PLD-PA pathway that regulates cell migration. *Sci. Signal.* **2**, ra52 (2009)査読有
- 8 Nishikimi A., Fukuhara H., Su W., Hongu T., Takasuga S., Mihara H., Cao Q., Sanematsu F., Kanai M., Hasegawa H., Tanaka Y., Shibasaki M., Kanaho Y., Sasaki T., Frohman M.A. and Fukui Y. Sequential regulation of DOCK2 dynamics by two phospholipids during neutrophil chemotaxis. *Science* **324**, 384-387 (2009)査読有

- 9 Kanaho Y., Funakoshi Y. and Hasegawa H. Phospholipase D signaling and its involvement in neurite outgrowth. *Biochim. Biophys. Acta* 1791, 898-904 (2009) 査読有
- 10 Wang Y., Chen X., Lian L., Tang T., Stalker T.J., Sasaki T., Kanaho Y., Brass L.F., Choi J.K., Hartwig J.H. and Abrams C.S. Loss of PIP5KI β demonstrates that PIP5KI isoform-specific PIP₂ synthesis is required for IP₃ formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105**, 14064-14069 (2008) 査読有
- 11 Wang Y., Litvinov R.I., Chen X., Bach T.L., Lian L., Petrich B.G., Monkley S.J., Kanaho Y., Critchley D.R., Sasaki T., Birnbaum M.J., Weisel J.W., Hartwig J. and Abrams C.S. Loss of PIP5KI γ , unlike other PIP5KI isoforms, impairs the integrity of the membrane cytoskeleton in murine megakaryocytes. *J. Clin. Invest.* **118**, 812-819 (2008) 査読有
- 12 Kanaho Y., Nakano-Kobayashi A. and Yokozeki T. Novel activation mechanism and physiological function of PIP5K γ 661. *Adv. Enzyme Regul.* **48**, 88-96 (2008) 査読有
- [学会発表] (計24件)
- 1 長谷川潤、杉本里香、山下美鈴、野口純子、岡田理沙、鶴木隆光、船越祐司、馬場忠、金保安則: 精子形成においてホスファチジルイノシトール 4-リン酸 5-キナーゼは必須である. 日本薬学会 第131年会、東日本大震災のため要旨発表のみ 2011
- 2 鶴木隆光、松田信爾、掛川渉、船越祐司、長谷川潤、柚崎通介、金保安則: リン脂質キナーゼ PIP5KC661 と AP-2 複合体の結合はポストシナプス可塑性を制御する. BMB2010, 2010年12月7日, 神戸ポートアイランド
- 3 長谷川潤、杉本里香、山下美鈴、野口純子、岡田理沙、鶴木隆光、船越祐司、馬場忠、金保安則: ホスファチジルイノシトール 4-リン酸 5-キナーゼ欠損マウスにおける精子形成不全. 第52回日本脂質生化学会, 2010年6月15日, 森秋旅館(群馬県渋川市)
- 4 佐藤隆信、本宮綱記、坂本めぐみ、船越祐司、長谷川潤、金保安則: Phospholipase Dはマウス好中球における活性酸素産生、酵素放出には必須でない. 第62回日本細胞生物学会大会, 2010年5月21日, 大阪国際会議場
- 5 船越祐司、樋口珠美、佐藤隆信、長谷川潤、金保安則: ARF6による PIP5K アイソザイム活性制御機構の解析. 第62回日本細胞生物学会大会, 2010年5月19日, 大阪国際会議場
- 6 Funakoshi Y., Higuchi T., Sato T., Hasegawa H., and Kanaho Y. Novel activation mechanism of PIP5Kc by the small GTPase ARF6. The 5th Japan-Korea Conference in Cellular Signaling for Young Scientists. 平成21年11月24日, ハウステンボス(長崎)
- 7 Okada R., Hasegawa H., Furuya Y., Funakoshi Y., and Kanaho Y. The role of PIP5K in wound healing. The 5th Japan-Korea Conference in Cellular Signaling for Young Scientists. 平成21年11月25日, ハウステンボス(長崎)
- 8 Higuchi T., Sato T., Hasegawa H., Funakoshi Y., and Kanaho Y. Isozyme specific activation of PIP5K by ARF6. The 5th Japan-Korea Conference in Cellular Signaling for Young Scientists. 平成21年11月25日, ハウステンボス(長崎)
- 9 Hongu T., Funakoshi Y., Hasegawa H., Kanaho Y. Involvement of small GTPase Arf6 in angiogenesis. International Symposium on Cellular Signaling. 平成21年11月18-19日, 筑波大学
- 10 金保安則、樋口珠美、渡辺宏子、小林裕一、佐藤隆信、長谷川潤、船越祐司. ARF6は PIP5K をアイソザイム依存的に活性化する. 第82回日本生化学会大会, 平成21年10月23日, 神戸ポートアイランド
- 11 長谷川潤、杉本里香、山下美鈴、野口純子、岡田理沙、鶴木隆光、船越祐司、馬場忠、金保安則. ホスファチジルイノシトール 4-リン酸 5-キナーゼは精子形成に不可欠である. 第82回日本生化学会大会, 平成21年10月24日, 神戸ポートアイランド
- 12 長谷川潤、杉本里香、山下美鈴、野口純子、岡田理沙、鶴木隆光、船越祐司、馬場忠、金保安則. ホスファチジルイノシトール 4-リン酸 5-キナーゼ α , β は精子形成に不可欠である. 第6回日本病理学会カンファレンス, 平成21年7月31日-8月1日, つくば国際会議場
- 13 長谷川潤、杉本里香、山下美鈴、野口純子、岡田理沙、鶴木隆光、船越祐司、馬場忠、金保安則. ホスファチジルイノシトール 4-リン酸 5-キナーゼの精子形成への関与. 第61回日本細胞生物学会大会, 平成21年6月5-6日, 名古屋国際会議場
- 14 鶴木隆光、松田信爾、船越祐司、長谷川潤、柚崎通介、金保安則. リン脂質キナーゼ PIP5K γ 661 と AP-2 複合体の結合はポストシナプス可塑性を制御する. 第61回日本細胞生物学会大会, 平成21年6月6日, 名古屋国際会議場

[産業財産権]

○出願状況 (計2件)

名称: Arf6 遺伝子機能喪失動物及びその利用
方法

発明者: 金保安則、本宮綱記、長谷川潤、船越祐司

権利者: 筑波大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-050431

出願年月日: 平成 22 年 3 月 8 日

国内外の別: 国内

名称: GTP 結合型 ARF6 タンパク質の測定
方法及びその用途

発明者: 金保安則、本宮綱記、周森、長谷川潤

権利者: 筑波大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-063109

出願年月日: 平成 22 年 3 月 18 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/biochem/kanaholab/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金保 安則 (KANAHO YASUNORI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
教授

研究者番号: 00214437

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

長谷川 潤 (HASEGAWA HIROSHI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
助教

研究者番号: 10332230

船越 祐司 (FUNAKOSHI YUJI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
助教

研究者番号: 30415286