

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6579339号
(P6579339)

(45) 発行日 令和1年9月25日 (2019.9.25)

(24) 登録日 令和1年9月6日 (2019.9.6)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68

請求項の数 14 (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願2017-235811 (P2017-235811)	(73) 特許権者	591173198
(22) 出願日	平成29年12月8日 (2017.12.8)		学校法人東京女子医科大学
(65) 公開番号	特開2019-100992 (P2019-100992A)		東京都新宿区河田町8-1
(43) 公開日	令和1年6月24日 (2019.6.24)	(74) 代理人	100094569
審査請求日	平成31年1月9日 (2019.1.9)		弁理士 田中 伸一郎
早期審査対象出願		(74) 代理人	100088694
			弁理士 弟子丸 健
		(74) 代理人	100103610
			弁理士 ▲吉▼田 和彦
		(74) 代理人	100084663
			弁理士 箱田 篤
		(74) 代理人	100093300
			弁理士 浅井 賢治
		(74) 代理人	100119013
			弁理士 山崎 一夫
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 神経膠腫の予測方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験者がグレード2～4の神経膠腫を患っている可能性を試験する方法であって、

(1) 被験者由来の血液サンプル中のビメンチンを検出する工程、及び、

(2) 工程(1)の検出結果を、ビメンチンが検出された場合、被験者がグレード2～4の神経膠腫を患っている可能性が高いという基準と比較する工程
を含むことを特徴とする方法。

【請求項 2】

グレード2～4の神経膠腫がグレード4の神経膠腫である、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

グレード2～4の神経膠腫が膠芽腫である、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

被験者が、グレード2～4の神経膠腫が疑われている者である、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 5】

被験者が、グレード2～4の神経膠腫が疑われていない者である、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】

血液サンプルが血清サンプルである、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 7】

10

20

ビメンチンをELISA法で検出する、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】

ELISA法がサンドイッチELISA法である、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

ビメンチンからなる、グレード2～4の神経膠腫検出用の血中マーカー。

【請求項10】

グレード2～4の神経膠腫がグレード4の神経膠腫である、請求項9に記載の血中マーカー。

【請求項11】

グレード2～4の神経膠腫が膠芽腫である、請求項10に記載の血中マーカー。

10

【請求項12】

グレード2～4の神経膠腫の発症を予測するためのキットであって、
血液サンプル中のビメンチンを検出する試薬、及び、

ビメンチンが検出された場合、被験者がグレード2～4の神経膠腫を患っている可能性が高いという基準を記載した説明書を含むことを特徴とするキット。

【請求項13】

ビメンチンを検出する試薬がビメンチン抗体を含む、請求項12に記載のキット。

【請求項14】

ビメンチンを検出する試薬がELISA法で用いられる試薬を更に含む、請求項13に記載のキット。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、被験者における神経膠腫の発症を予測する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

神経膠腫(glioma)は脳に発生する悪性腫瘍の一つであり、全頭蓋内腫瘍の約25%を占めている。

神経膠腫には多様な種類が存在するが、世界保健機関(WHO)による分類が世界的に用いられている(非特許文献1)。WHO分類は悪性度に基づいており、各神経膠腫がグレード1(悪性度が最も低い)～グレード4(悪性度が最も高い)に分類されている。そして各神経膠腫の治療方針も、このグレードに基づいて定められている。

30

神経膠腫のなかには悪性度が高く予後が悪いもの(例えば、グレード4に分類される膠芽腫は5年生存率が10%以下である)があるので、神経膠腫であることを正確に判定し、神経膠腫に適した治療を開始することが患者の予後にとって重要である。

【0003】

神経膠腫の確定診断には、CTやMRI等の画像診断と、画像診断により神経膠腫が疑われている被験者から採取した脳組織を病理医が顕微鏡で観察する病理組織検査とが用いられている。

40

しかしながら、病理組織検査は複雑な免疫組織化学染色操作を必要とするため、結果を得るまでに時間がかかる。また脳組織の採取は被験者に対する侵襲性が大きく危険性も少なくないため、脳組織の採取が行えない場合もある。

画像診断では、神経膠腫とは異なる疾患である転移性脳腫瘍や悪性リンパ腫との鑑別が困難であることが少なくない。また造影剤を使用し検査時間が長い画像診断は、小児や全身状態の悪い被検者で頻繁に行うことが困難である。

これらの課題を解決すべく、採取が容易な血液に含まれる腫瘍マーカーの探索が行われ、幾つかの神経膠腫マーカーが報告されている(非特許文献2)。

本発明が採用するビメンチンについては、結腸癌等の結腸新生物を検出するためのマーカーとして使用できること(特許文献1)や、転移性脳腫瘍を診断するためのマーカーと

50

して使用できること（特許文献2）が報告されている。なお、神経膠腫は転移性脳腫瘍に分類されるものではない。更にビメンチンについては、免疫組織化学的研究に基づき、中枢神経における未熟神経膠細胞で発現することと、その発現増強が神経膠腫の悪性度に相関することが報告されている（非特許文献3）。しかし、ビメンチンが血液等の細胞外に存在することは知られていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】国際公開第2005/017207号

【特許文献2】韓国公開特許第10-2014-0108910号公報

10

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Acta Neuropathol (2007) 114:97-109

【非特許文献2】Neuro-Oncology 17(3), 343-360, 2015

【非特許文献3】脳神経 (1987) 39: 579-585

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

これまでに報告されている血液中の神経膠腫マーカーは感度及び特異度が低いため、臨床応用には至っていない。

20

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者等は、被験者に対する侵襲性や危険性が低く、簡便、迅速かつ正確に神経膠腫の発症を予測できる手段について鋭意検討したところ、被験者の血液中のビメンチンの存在が膠芽腫の発症と関連していることを見いだした。本発明はこの知見に基づいてなされたものである。

【0008】

すなわち、本発明は下記〔1〕～〔16〕に関するものである。

〔1〕被験者における神経膠腫の発症を予測する方法であって、

（1）被験者由来の血液サンプル中のビメンチンを検出する工程、及び、

30

（2）ビメンチンが検出された場合、被験者が神経膠腫を患っている可能性が高いと予測する工程

を含むことを特徴とする方法。

〔2〕神経膠腫がグレード2～4の神経膠腫である、前記〔1〕に記載の方法。

〔3〕神経膠腫がグレード4の神経膠腫である、前記〔2〕に記載の方法。

〔4〕神経膠腫が膠芽腫である、前記〔3〕に記載の方法。

〔5〕被験者が、神経膠腫が疑われている者である、前記〔1〕～〔4〕のいずれか1項に記載の方法。

〔6〕被験者が、神経膠腫が疑われていない者である、前記〔1〕～〔4〕のいずれか1項に記載の方法。

40

〔7〕血液サンプルが血清サンプルである、前記〔1〕～〔6〕のいずれか1項に記載の方法。

〔8〕ビメンチンをELISA法で検出する、前記〔1〕～〔7〕のいずれか1項に記載の方法。

〔9〕ELISA法がサンドイッチELISA法である、前記〔8〕に記載の方法。

〔10〕ビメンチンからなる、神経膠腫検出用の血中マーカー。

〔11〕神経膠腫がグレード2～4の神経膠腫である、前記〔10〕に記載の血中マーカー。

〔12〕神経膠腫がグレード4の神経膠腫である、前記〔11〕に記載の血中マーカー。

〔13〕神経膠腫が膠芽腫である、前記〔12〕に記載の血中マーカー。

50

〔14〕神経膠腫の発症を予測するためのキットであって、
血液サンプル中のビメンチンを検出する試薬、及び、
ビメンチンが検出された場合、被験者が神経膠腫を患っている可能性が高いと予測することを記載した説明書
を含むことを特徴とするキット。

〔15〕ビメンチンを検出する試薬がビメンチン抗体を含む、前記〔14〕に記載のキット。

〔16〕ビメンチンを検出する試薬がE L I S A法で用いられる試薬を更に含む、前記〔15〕に記載のキット。

【発明の効果】

10

【0009】

後述する実施例に示されるように、本発明は被験者に対する侵襲性や危険性が低い手段により入手可能な血液を用いて神経膠腫の発症を簡便、迅速かつ正確に予測することができる。したがって、本発明を用いることにより、画像診断で神経膠腫が疑われている被験者に対しては迅速かつ正確な神経膠腫の診断が可能になる。また本発明により、通常健康診断の際に神経膠腫の検査を行うことも可能になる。

更に本発明によって得られる予測結果は、神経膠腫治療の効果判定や、治療後の再発判定にも利用することができる。

【図面の簡単な説明】

【0010】

20

【図1】図1は、健常者（グループ0）、グレード2の神経膠腫患者（グループ2）、グレード3の神経膠腫患者（グループ3）及びグレード4の神経膠腫患者（グループ4）に由来する血清サンプル中のビメンチン濃度を示す図である。

【図2】図2は、健常者（グループ0）及び神経膠腫患者（グループ2～4）に由来する血清サンプル中のビメンチン濃度を示す図である。

【図3】図3は、健常者（グループ0）と神経膠腫患者（グループ2～4）のデータを用いて作成した、血清ビメンチン濃度に関するROC曲線である。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明を更に詳細に説明する。

30

本発明の、被験者における神経膠腫の発症を予測する方法は、下記の工程：

（1）被験者由来の血液サンプル中のビメンチンを検出する工程、及び、

（2）ビメンチンが検出された場合、被験者が神経膠腫を患っている可能性が高いと予測する工程
を含んでいる。

【0012】

〔工程（1）〕

神経膠腫（glioma）は脳に発生する悪性腫瘍の一つである。脳腫瘍は原発性脳腫瘍と転移性脳腫瘍とに大別されるところ、神経膠腫は原発性脳腫瘍に分類される。

悪性度に基づくWHO分類によれば、神経膠腫はグレード1（悪性度が最も低い）～グレード4（悪性度が最も高い）に分類されている。

40

グレード1の神経膠腫としては、毛様細胞性星細胞腫や上衣下巨細胞性星細胞腫等が挙げられる。

グレード2の神経膠腫としては、びまん性星細胞腫、乏突起膠腫や乏突起星細胞腫等が挙げられる。

グレード3の神経膠腫としては、退形成性星細胞腫、退形成性乏突起膠腫や退形成性乏突起星細胞腫等が挙げられる。

グレード4の神経膠腫としては、膠芽腫（glioblastoma）や膠肉腫等が挙げられる。

本発明は、いずれのグレードの神経膠腫にも適用可能であるが、好適にはグレード2～4の神経膠腫に、特に好適にはグレード4の神経膠腫に適用可能である。

50

【0013】

膠芽腫は神経膠細胞から発生する神経膠腫である。WHO分類では、グレード4に分類されている悪性度の高い神経膠腫である。膠芽腫は、45～65歳の男性の脳半球で多く発生することや、症状として頭痛、痙攣、性格変化、認知症や運動麻痺などがあることや、悪性度が高いため症状の進行が早いことが知られている。

【0014】

被験者は、神経膠腫を発症する可能性のあるあらゆる動物が含むが、好ましくは哺乳動物、特に好ましくはヒトである。

被験者は、公知の神経膠腫の検査手段（例えば、CTやMRI等）により神経膠腫が疑われている者であってもよく、神経膠腫が疑われていない者（例えば、通常健康診断を受ける者）であってもよい。

また、被験者の性別や年齢は問わない。

【0015】

被験者由来の血液サンプルの調製は、当該技術分野で一般的に用いられている手法を特に制限なく用いて行うことができる。

血液サンプルは、被験者から採取した血液をそのまま使用してもよいが、被験者から採取した血液を加工したもの（例えば、血清や血漿等）を使用することが好ましい。ビメンチンをより正確かつ迅速に測定できる点で、血清サンプルを用いることが好ましい。

血清サンプルの調製は、当該技術分野で一般的に用いられている手法を特に制限なく用いて実施できる。例えば、被験者から血液（例えば静脈血）を採取し、これを室温下で静置（例えば30分間）した後、遠心分離（例えば3500rpmで10分間）することで調製できる。調製した血清サンプルは、本発明の方法に使用するまで凍結保存（例えば-80℃）してもよい。

【0016】

ビメンチン（vimentin）は、主に間葉系細胞の細胞質に存在する公知の細胞骨格タンパク質（III型中間系フィラメント）である。ビメンチンは、現在、免疫組織化学染色で広範に用いられているが、血液等の細胞外に存在することは知られていない。

【0017】

血液サンプル中のビメンチンの検出は、当該技術分野で一般的に用いられており、かつ、血液に適用可能なビメンチン検出方法や定量方法を特に制限なく用いて実施できる。具体例としては、ビメンチン特異的抗体を用いたELISA法（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay、酵素結合免疫吸着検定法）があり、これはビメンチンに対する特異性が高くかつ定量性に優れている。

したがって、工程（1）は、当該技術分野で公知であり、血液に適用可能なビメンチン検出手段、例えばビメンチン抗体を含むビメンチン検出キット、好ましくはビメンチン用ELISAキットを用いて実施することができる。

【0018】

工程（1）に好適なELISA法としては、サンドイッチ法や直接吸着法が挙げられる。ビメンチンに対する特異性が高い点でサンドイッチELISA法が好ましい。

例えば、サンドイッチELISA法は下記の工程で行うことができる。

1. ビメンチン抗体（捕獲抗体）を固相に吸着させる。
2. 固相をブロッキングする。
3. 被検者由来の血液サンプルを固相へ添加して、捕獲抗体とビメンチンとのコンジュゲートを形成させる。
4. ビオチン標識されたビメンチンに対する抗体（一次抗体）を固相へ添加して、捕獲抗体とビメンチンと一次抗体とのコンジュゲートを形成させる。
5. アビジン標識された酵素を添加して、捕獲抗体とビメンチンと一次抗体と酵素とのコンジュゲートを形成させる。
6. 酵素基質を添加して、酵素反応生成物を検出する。

サンドイッチ E L I S A 法で用いる一次抗体は、捕獲抗体が認識するエピトープとは異なるエピトープを認識するビメンチンに対する抗体である。

サンドイッチ E L I S A 法を用いてビメンチンを測定するキットは市販されており（例えば、商品名：Vimentin ELISA Kit (Uscn Life Science Inc., Wuhan, China)）、これらの市販品を特に制限なく工程（１）に用いることができる。

【００１９】

血液サンプル中のビメンチンは、E L I S A 法以外の方法で検出してもよい。具体例としては、マイクロ流路を利用した方法、ウエスタンブロット法、ドットブロット法、オクタロニー法や、免疫沈降法等が挙げられる。

10

【００２０】

〔工程（２）〕

工程（２）では、工程（１）で測定された血液サンプル中のビメンチンの存否に基づいて、被験者が神経膠腫を患っている可能性を予測する。具体的には、ビメンチンが検出された場合、被験者が神経膠腫を患っている可能性が高いと予測する

【００２１】

本発明にしたがい得られた予測結果は、下記の様に利用することができる。

本発明を、C T や M R I 等の画像診断により神経膠腫が疑われている被験者に対して実施した場合、本発明により得られた予測結果を他の神経膠腫の診断基準（病理組織検査結果等）と組み合わせることにより、より迅速かつ正確な確定診断を行うことができる。また、被験者の健康状態等により脳組織の採取が困難な場合には、本発明による予測結果をより有効に活用することができる。

20

本発明を、神経膠腫が疑われていない者（例えば、通常健康診断を受ける者）に対して実施した場合、本発明にしたがって得られた予測結果を用いて、神経膠腫に関する二次検査（精密検査）の要否を判定することができる。したがって、被験者に対する侵襲性及び危険性が低い血液サンプルを用い、かつ、簡便な手段で実施できる本発明を用いることで、従来は行われていなかった神経膠腫の検査を通常健康診断における検査項目とすることができる。

更に、神経膠腫の治療を受けた被検者に由来する血液サンプルを用いた場合、本発明にしたがい得られた予測結果を、治療の効果判定や、治療後の再発判定に利用できる。

30

【００２２】

前記の予測方法は、ビメンチンからなる神経膠腫検出用の血中マーカーとして把握することができる。この血中マーカーは、被験者における神経膠腫の発症の予測又は検出のために使用できる。

【００２３】

更に本発明は、前記の神経膠腫の予測方法を行うためのキットに関する。このキットは、血液サンプル中のビメンチンを検出する試薬と、ビメンチンが検出された場合に被験者が神経膠腫を患っている可能性が高いと予測することを記載した説明書とを含む。

ビメンチンを検出する試薬としては、ビメンチンを検出し定量するために当該技術分野で一般的に用いられており、かつ、血液に適用可能なものを特に制限なく用いることができる。具体例としては、ビメンチン特異的抗体が挙げられる。

40

本発明のキットは、好ましくは、前記の E L I S A 法、特にサンドイッチ E L I S A 法を用いる。この場合のキットは、E L I S A 法で用いられる試薬（例えば、サンドイッチ E L I S A 法で用いられる固相ブロッキング剤、ビメンチン抗体（捕獲抗体）、一次抗体、酵素や、酵素基質等）を含むことができる。

【００２４】

次に実施例により本発明の効果を具体的に説明するが、本発明は実施例に限定されるものではない。

【実施例】

【００２５】

50

〔実施例 1〕

WHO分類でグレード2～4の神経膠腫患者及び健常者に由来する血液サンプル中のビメンチン濃度を測定して、比較した。

(1) 被験者

被験者を下記のグループに分類した。

〔グループ 0〕

健常者ボランティア：9名

〔グループ 2〕

グレード2の神経膠腫：6名

10

内訳：

びまん性星細胞腫：1名

乏突起膠腫：5名

〔グループ 3〕

グレード3の神経膠腫：8名

内訳：

退形成性乏突起膠腫：8名

〔グループ 4〕

20

グレード4の神経膠腫：15名

内訳：

膠芽腫：15名

【0026】

グループ2～4の各被験者は、2013年5月～2014年6月の間に東京女子医大脳神経外科で開頭腫瘍摘出術又は生検術を受け、採取された脳組織の病理検査より各疾患に対する診断が確定した者であった。

【0027】

(2) 血液サンプルの調製

各被験者から静脈血を採取し、室温下で30分間静置した後、遠心分離（3500rpmで10分間）することによって血清サンプルを調製した。調製した血清サンプルは、ビメンチンを測定するまで凍結保存（-80℃）した。

30

【0028】

(3) ビメンチンの測定

凍結保存した血清サンプルを4℃で解凍した。次いで、市販のビメンチン測定キット（商品名：Vimentin ELISA Kit (Uscn Life Science Inc., Wuhan, China)）を用い、キット添付のプロトコルに従いサンドイッチELISAを行い、血清サンプル中のビメンチン濃度を測定した。

測定結果を図1に示す。グループ0のビメンチン濃度は検出限界濃度（7.8 ng/ml）未満であったため、0 ng/mlとした。

40

【0029】

各グループの血清ビメンチン濃度の平均値は以下の通りであった。

	血清サンプル中のビメンチン濃度 (n g / m l)
グループ 0 (健常者)	0
グループ 2 (グレード 2 の神経膠腫)	22.0
グループ 3 (グレード 3 の神経膠腫)	18.1
グループ 4 (グレード 4 の神経膠腫)	14.7
グループ 2 ～ 4 の平均	17.2

【 0 0 3 0 】

10

各グループ間の血清ビメンチン濃度をStudent-t testを用いて統計学的に評価した。結果を以下の表に示す。

【 0 0 3 1 】

Student-t testでのペアごとの比較

水準	-水準	差	差の標準誤差	下側信頼限界	上側信頼限界	p値
2	0	22.02650	6.598320	8.61710	35.43590	0.0021
3	0	18.08563	6.083350	5.72277	30.44848	0.0054
4	0	14.70213	5.278656	3.97461	25.42965	0.0087
2	4	7.32437	6.047460	-4.96555	19.61428	0.2342
2	3	3.94087	6.761266	-9.79967	17.68142	0.5638
3	4	3.38349	5.480976	-7.75519	14.52218	0.5411

20

【 0 0 3 2 】

この統計学的評価結果はグループ 2、グループ 3、グループ 4 のそれぞれの血清ビメンチン濃度が、グループ 0 (健常者) の血清ビメンチン濃度に対して有意差 ($p < 0.05$) があることを示している。

【 0 0 3 3 】

グループ 2 ～ 4 を神経膠腫患者としてまとめてプロットしたものを図 2 に示す。

【 0 0 3 4 】

30

健常者と神経膠腫患者との間の血清ビメンチン濃度をStudent-t testを用いて統計学的に評価した。結果を以下の表に示す。

【 0 0 3 5 】

Student-t testでのペアごとの比較

水準	-水準	差	差の標準誤差	下側信頼限界	上側信頼限界	p値
2 ～ 4	0	17.1509	4.7456	7.5263	26.7755	0.0009

【 0 0 3 6 】

この統計学的評価結果はグループ 2 ～ 4 の神経膠腫患者の血清ビメンチン濃度が、グループ 0 (健常者) の血清ビメンチン濃度に対して有意差 ($p < 0.05$) があることを示している。

40

【 0 0 3 7 】

上記の結果より、血清サンプル中のビメンチンの存在を指標として、神経膠腫と健常者とを識別できることが理解される。

【 0 0 3 8 】

次に、健常者 (グループ 0) と神経膠腫患者 (グループ 2 ～ 4) の血清ビメンチン濃度のデータを用いてROC曲線を作成した (図 3)。ROC曲線は検査の信頼度を示す。ROC曲線において、Y軸の「感度 (真陽性率)」は神経膠腫に罹患している集団に対して検査を行ったとき陽性 (異常値) を示す割合を示し、X軸の「1-特異度 (偽陽性率)」は神経膠腫

50

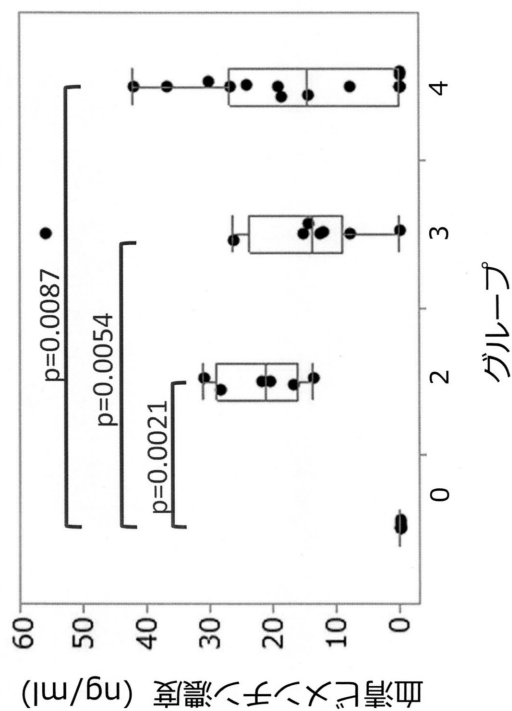
でない健常者（陰性）を陽性として検出してしまう割合を示す。したがって、ある検査法のROC曲線の曲線下面積（AUC）が1に近いほど、当該検査法の信頼性は高くなる。実施例1のROC曲線のAUCは0.88であった。この結果より、血中ビメンチンの存在を指標とする本発明は、神経膠腫の発症予測に関して信頼性の高い方法であることが理解される。

【産業上の利用可能性】

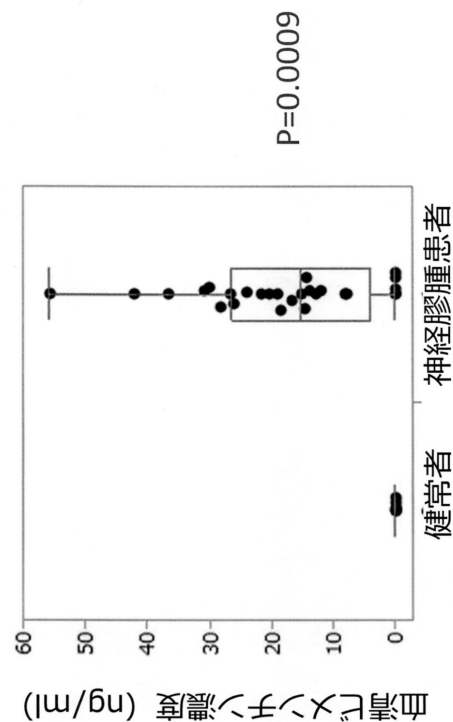
【0039】

神経膠腫の発症を予測できる本発明は、神経膠腫の診断に利用することができる。

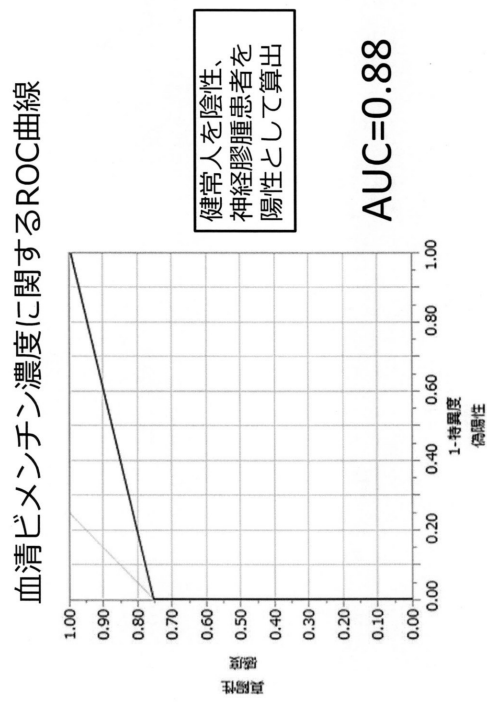
【図1】



【図2】



【図 3】



フロントページの続き

- (74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき
- (74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信
- (74)代理人 100136249
弁理士 星野 貴光
- (72)発明者 村垣 善浩
東京都新宿区河田町8番1号 学校法人東京女子医科大学内
- (72)発明者 岡本 沙織
東京都新宿区河田町8番1号 学校法人東京女子医科大学内
- (72)発明者 丸山 隆志
東京都新宿区河田町8番1号 学校法人東京女子医科大学内

審査官 磯田 真美

- (56)参考文献 ABAZA, M.S. et al., Human Glioma associated intermediate filament proteins: over-expression, co-localization and cross-reactivity, Anticancer Research, 1998年 3月 1日, Vol. 18, No. 2B, pp. 1333-1340
加藤 拓 ほか, 脳腫瘍の免疫細胞化学的検討, 日本臨床細胞学会雑誌, 1990年11月, Vol. 29, No. 6, pp. 806-812
LUDWIG, N. et al., Improving Seroreactivity-Based Detection of Glioma, NEOPLASIA, 2009年12月, Vol. 11, No. 12, pp. 1383-1389

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/48 — 33/98
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)
医中誌WEB