

## 総説：アレスチンの構造と機能

大 黒 浩

札幌医科大学医学部眼科学講座 (主任 中川 喬 教授)

### REVIEW: Structure and function of arrestins

HIROSHI OOHGURO

*Department of Ophthalmology, Sapporo Medical University, School of Medicine*

*(Chief: Prof. T. NAKAGAWA)*

#### ABSTRACT A review: Structure and function of arrestins

Arrestin is a family of proteins that is involved in two different processes: (1) desensitization of the activated G-protein-coupled receptors, and (2) autoimmune diseases. This family consists of retinal arrestin,  $\beta$ -arrestin, invertebrate arrestin and their spliced variant forms. These proteins have high homologies in their functions and structures. Retinal arrestin was the first of the family to be identified and the most extensively studied so far.

In vertebrate rod photoreceptors, rhodopsin absorbs light and is transformed to an active photobleaching intermediate called metarhodopsin II (meta II). Meta II activates several thousand molecules of a GTP binding protein called transducin, and is the substrate of rhodopsin kinase (RK). RK phosphorylates photoactivated rhodopsin at the C-terminal Ser and Thr residues. The phosphorylated photolyzed rhodopsin prevents transducin activation by binding arrestin.

Retinal arrestin (called S-antigen) is also known to be a highly pathogenic molecule that induces uveoretinal inflammation in Mammalia. Recently, the author found serum autoantibodies against arrestin and  $\beta$ -arrestin in patients with multiple sclerosis and/or optic neuritis.

In this article, I reviewed the latest information regarding the structure and functions of arrestins.

(Received December 4, 1995 and accepted January 16, 1996)

**Key words:** Arrestin, Autoimmune disease, G-protein-coupled receptor, Multiple sclerosis, Desensitization

#### 1 結 言

我々の体を構成する個々の細胞は、細胞外からの信号に応じて応答するために細胞膜表面にそれぞれの信号に特異的な受容体とそれを細胞内に伝える酵素反応系を備えている。これらの受容体のうち、アゴニストを結合すると GTP 結合蛋白質を活性化させるものを G 蛋白質共役受容体と呼んでいる。G 蛋白質共役受容体は膜を 7 回貫通する 7-helix 構造を持つ。この中でも光受容体蛋白質ロドプシンや  $\beta$ -アドレナリン受容体は最もその性質や制御機構が明らかとなっている。これらの受容体はアゴニストとの結合により活性化されると

同時に活性化された受容体は特異なキナーゼ (G-protein-coupled kinase, GRK)<sup>1-3)</sup> により C 末端部分がリン酸化され、さらに分子量が約 4 万 5 千のアレスチンと呼ばれる蛋白質が結合することで受容体が脱感作される<sup>4)</sup>。従って受容体のリン酸化反応とアレスチンとの結合は、受容体活性のスイッチを切り替えるために非常に重要であることがわかってきた。一方網膜視細胞のアレスチンは、それ自体非常に抗原性が強く、これを動物に注射すると実験的にぶどう膜炎を引き起こすことから S 抗原ともよばれていた<sup>5)</sup>。さらに最近我々のグループは、多発性硬化症や視神経炎等の脱髓疾患患者の一部に血清アレスチン抗体ができること

を発見した<sup>6,7)</sup>。このように受容体の制御と自己抗原という全く性質の異なった2面性を持つアレステンの機能と構造について最新の知見について紹介する。

## 1. アレステンファミリーとその構造

Shinohara *et al.*<sup>8)</sup>は1987年cDNAの塩基配列よりウシアレステンの1次構造を決定した(404個のアミノ酸残基より構成される)(図1)。その後各種動物のアレステンの構造が同様の方法により次々に決定された<sup>9)</sup>。最近、錐体視細胞に特異なアレステンもクローニングされた<sup>10,11)</sup>。1992年Lohse *et al.*<sup>12)</sup>は脳にアレステンに相同性を持つcDNAクローンを発見し、発現された蛋白質が $\beta$ アドレナリン受容体(以下 $\beta$ 受容体と略する)に共役することから $\beta$ アレステンと呼んだ。その後、これに似た $\beta$ アレステン-2<sup>13)</sup>および $\beta$ アレステン-3<sup>14)</sup>も発見されている。

無脊椎動物であるショウジョウバエにもアレステンと相同性のあるクローンが発見されている<sup>15,16)</sup>。面白いことにC末端部分が短くなった分子種も併せて見いだされている<sup>17,18)</sup>。

ヒトとマウスのアレステン遺伝子はそれぞれchromosome2およびchromosome1上に位置しており<sup>19,20)</sup>、約50 kilobase pairで16 exonsと15 intronsから構成されている<sup>21-23)</sup>。しかし最近発見されたヒト錐体由来の

アレステンはX chromosome上に位置することが明らかとなっている<sup>11)</sup>。

アレステンはN末端のMet残基がアセチル化されている以外翻訳後修飾はないことが質量分析によりわかった<sup>24,25)</sup>。またCD spectroscopyでアレステンは40%が $\beta$ -structure, 18%が $\beta$ -turn, 40%がundefinedで、 $\alpha$ -helixは検出されなかった<sup>26)</sup>。

## 2. 視細胞におけるアレステンの生理的役割

ヒトの視細胞は光刺激に敏感に感知し電気信号に変換するために高度に分化した神経細胞である。視興奮は視細胞外節中に存在する酵素反応カスケードによりもたらされる。即ち、視細胞桿体外節円板膜上に存在するロドプシンに光が当たると活性型の褪色中間体に変化する。次にこれがG蛋白質を介してホスホジエステラーゼを活性化させる結果、細胞質中のcGMP濃度が減少し、形質膜上のcGMP依存性チャンネルが閉鎖する(受容器電位の発生)<sup>27-30)</sup>。しかし視細胞にはさらに、目まぐるしく変化する外部の光情報に対応するために視興奮を直ちに停止し、次の光刺激に備えるために光信号を受容する以前の状態に戻すもうひとつの酵素反応系が存在する。それはまず光退色されたロドプシンがG蛋白質を活性化する一方でロドプシンキナーゼ(RK)<sup>1-3)</sup>またはプロテインキナーゼC(PKC)<sup>31,32)</sup>

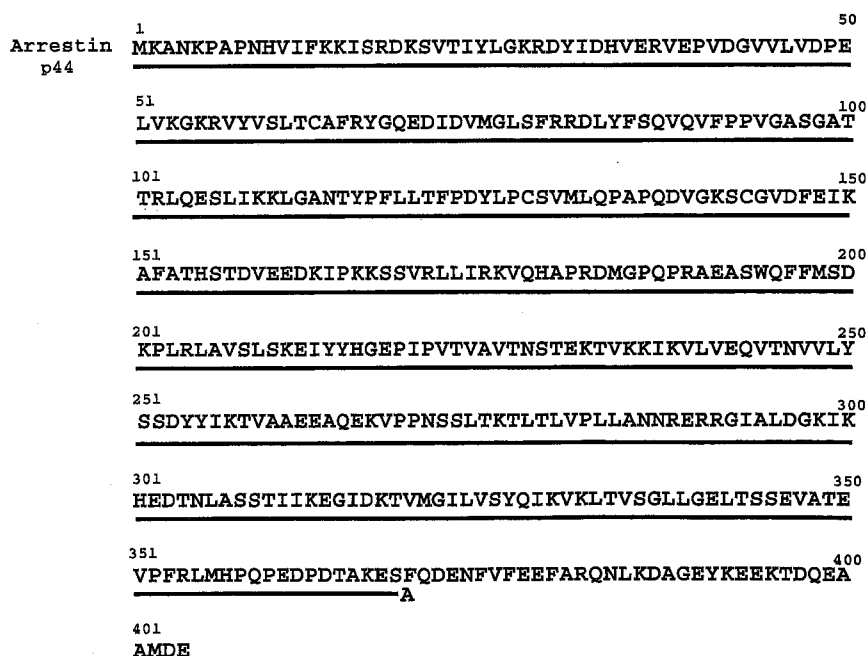


図1 牛アレステンおよびP44の一次構造

によりリン酸化されることから始まる。リン酸化されたロドプシン褪色中間体はアレスチンと特異的に結合し複合体を形成する<sup>33,34</sup>と、ロドプシン褪色中間体とG蛋白との共役が断たれ信号が停止する（しかし直接アレスチンがG蛋白質による増幅を停止させるという証明はない<sup>35</sup>）。次にリン酸化ロドプシン褪色中間体/アレスチン複合体からレチノールデヒドロゲナーゼがオールトランススレチナールを引き抜くと同時にアレスチンをリン酸化オプシンから遊離させる（図2）。リン酸化オプシンはプロテインフォスファターゼ2Aにより脱リン酸化されたのち11-シススレチナールと結合しロドプシンに再生される<sup>36</sup>。これら一連の化学反応によりロドプシン褪色中間体が再びロドプシン（暗状態）に再生される。

### 3. ロドプシンとアレスチンの結合の分子機構

アレスチンの一次構造を注意深く観察すると中央部には塩基性およびC末端付近には酸性アミノ酸が多数存在しており、それぞれ陽性（+）および陰性（-）

に帯電しているものと推定される<sup>8</sup>。さらに両者の間には比較的疎水性のアミノ酸が集中していることからアレスチン分子はこの疎水性に富んだ部分（h）を挟んで中央部の塩基性に富んだ部位とC末端の陰性に富んだ部位が分子間結合を形成していると考えられる（図3）。ロドプシンとアレスチンとの結合を検討した今までの実験結果として1) アレスチンはリン酸化光褪色したロドプシンとのみ結合し、リン酸化のみまたは光褪色のみのロドプシンとは結合しない<sup>34</sup>、2) アレスチンをリン酸化光褪色ロドプシンの有り無しでトリプシン消化するとリン酸化光褪色ロドプシン存在下のほうが容易にアレスチンのC末端が切断されやすくなる<sup>37</sup>、3) アレスチンに人工的に合成したリン酸化C末端ロドプシンペプチドを加えると非リン酸化で光褪色されたロドプシンに結合するようになる<sup>38</sup>、4) C末端が欠落したアレスチン mutant は膜に親和性を持つようになる<sup>39</sup>、5) リン酸化光褪色ロドプシンとアレスチンの結合に Lys 残基の陽性チャージが必須である<sup>25</sup>、などがある。これ

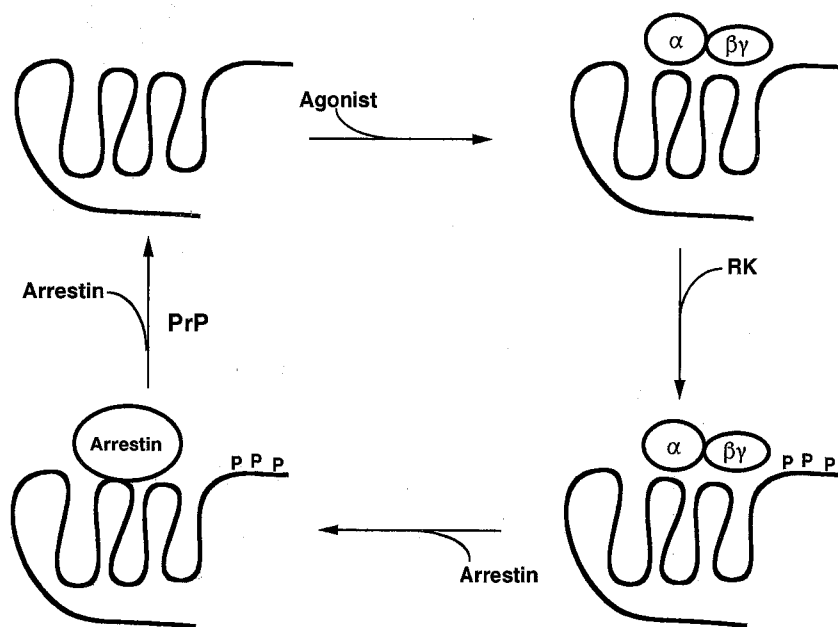


図2 アレスチンによるロドプシンの不活化機構

ロドプシンがagonist (光) により活性化されるとこれにGTP結合蛋白質サブユニット ( $\alpha\beta\gamma$ ) が結合する。ロドプシンキナーゼが光褪色ロドプシンをリン酸化するとこれにアレスチンがGTP結合蛋白質サブユニットの替わりに結合する。フォスファターゼがロドプシンを脱リン酸化するとアレスチンはロドプシンより遊離し、ロドプシンは最初の状態に戻る。 $\alpha$ ,  $\beta\gamma$ : GTP結合蛋白質サブユニット, RK: ロドプシンキナーゼ, PrP: フォスファターゼ。

らを総合して考えるとリン酸化されたロドプシン C 末端部分がアレスチンの分子間結合の間に割り込むことによりアレスチンの C 末端部分が静電的に反発し自由になる。その結果アレスチンの疎水性部分が露出し、光褪色したロドプシンと強固に結合すると推定される (図 3)。

#### 4. P44 (スプライスヴァリエント)

ヒト  $\beta$  アレスチン-1 およびアレスチンには 2 種類の mRNA alternative splice variant が存在することが報告されている<sup>40)</sup>。これらはアレスチン分子の C 末端側が欠落した構造になっている。さらに  $\beta$  アレスチン-2 にも 361 残基と 362 残基の間に 11 残基アミノ酸が挿入された分子種が発見されている<sup>41)</sup>。しかしこれら異分子種の生理的意義については明らかではない。最近 Palczewski *et al.* は視細胞桿体外節にはアレスチンの C 末端 30 アミノ酸残基が Ala に置換された C 末端構造が異なるアレスチン分子種 P44 を発見した<sup>42)</sup> (図 1)。この Ala の場所は、gene organization で intron/exon junction の部位であることと mRNA の解析より P44 がアレスチンの mRNA alternative splice variant であることがわかった。興味深いことにそれぞれアレスチンと P44 を特異的に認識するポリクロン抗体を作製し免疫組織学的検討を行ったところアレスチンは視細胞の内節および外節両方に存在するのに対し、P44 は外節のみに存在することがわかった<sup>43)</sup>。さらに精製した P44 を用いてロドプシンおよびリン酸化ロドプシンとの再構成実験を行ったところ P44 は光褪色ロドプシン、リン酸化ロドプシンおよび光褪色リン酸化ロドプシンのいずれとも強い結合性を示した<sup>42)</sup>。従って以上のことから P44 はロドプシンのリン酸化を必要としない脱感作機構に関与するものと考えられている。

#### 5. $\beta$ 受容体の脱感作と $\beta$ アレスチン (図 4)

$\beta$  受容体の脱感作は、先に示したロドプシンの活性遮断および再生の機構とほぼ同様の分子機構により起こることが明らかとなっている<sup>1,2)</sup>。即ち、 $\beta$  受容体がリガンドと結合し活性化されるとこれが G 蛋白質 (G と略す) を活性化させる。この時 G 蛋白質の活性化に伴って遊離した  $G\beta\gamma$  が  $\beta$  受容体キナーゼ ( $\beta$ ARK) を活性化させると  $\beta$  受容体がリン酸化される。リン酸化された  $\beta$  受容体に  $\beta$  アレスチンが結合すると  $\beta$  受容体はそれ以後 G 蛋白質を活性化できなくなる。

#### 6. 実験ぶどう膜炎とアレスチン

アレスチンはそれ自体非常に抗原性が高い蛋白質でアレスチンと完全アジュバントを動物に注射すると容易に T 細胞系を介してぶどう膜炎 (EAU; Experimen-

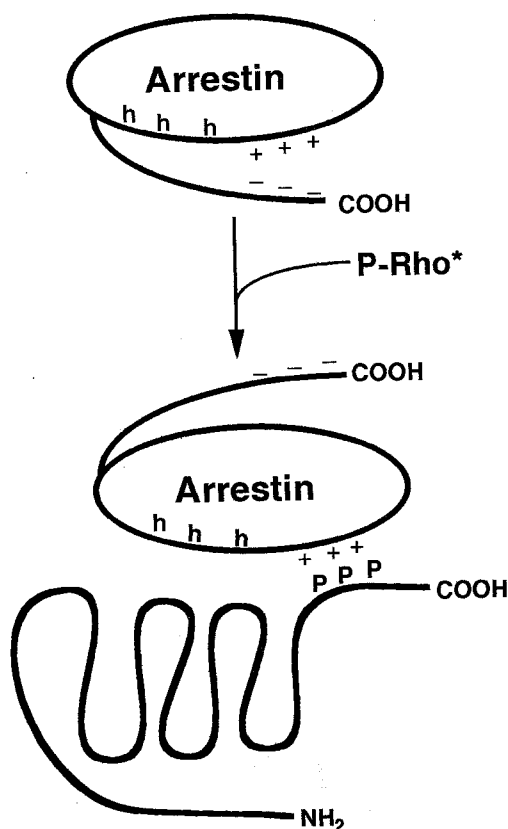


図 3 アレスチンとリン酸化褪色ロドプシンとの結合機構

tal Autoimmune Uveitis) を引き起こすことから、アレスチンは別名 S 抗原又は 48 kDa 蛋白質とも呼ばれる<sup>5)</sup>。EAU は T 細胞免疫選択的抑制物質である cyclosporin A で発生を抑えることができる<sup>44)</sup>。実際にぶどう膜炎患者でアレスチンが本当にその発症に関与しているかどうか不明である。アレスチンに対し免疫を獲得する機序としてアレスチン分子と類似構造を持つ別の蛋白質に被曝することによりアレスチンに免疫を持つという molecular mimicry 説が提唱されている<sup>45)</sup>。実際にアレスチンの一次構造を homology をもつ蛋白質を検索すると面白いことに virus や食物の一部が候補に挙げられる。

#### 7. 脱髄疾患とアレスチン抗体

筆者らのグループは、14 例中 8 例の多発性硬化症 (MS) 患者の血清中にアレスチン抗体が出現することを発見した<sup>6)</sup>。非常に興味深い事に血清アレスチン抗体が陽性であった 2 症例において再発期と寛解期におい

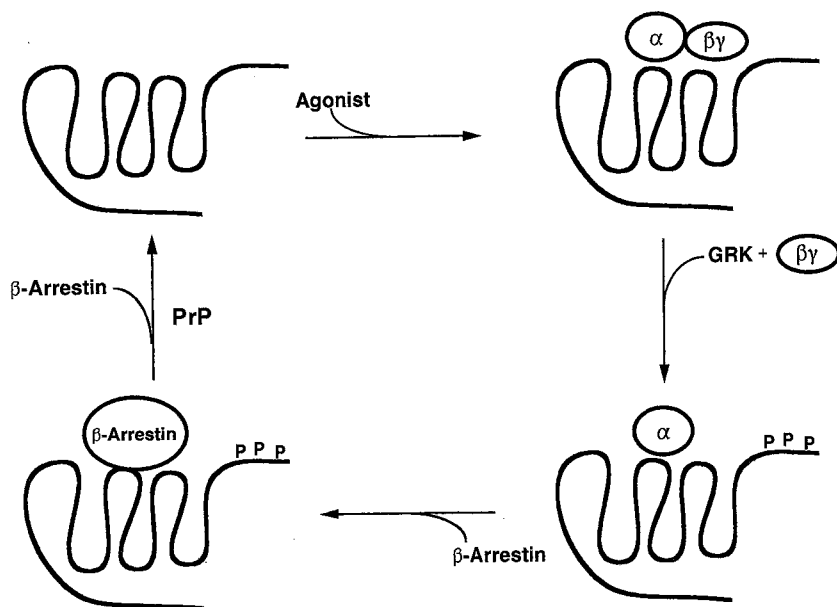


図4  $\beta$  アレスチンによる  $\beta$  アドレナリン受容体の不活化機構

$\beta$  アドレナリン受容体が agonist により活性化されるとこれに GTP 結合蛋白質サブユニット ( $\alpha\beta\gamma$ ) が結合する。 $\beta$  アドレナリン受容体キナーゼが GTP 結合蛋白質サブユニット  $\beta\gamma$  依存的に  $\beta$  アドレナリン受容体をリン酸化する。 $\beta$  アレスチンが GTP 結合蛋白質サブユニットの替わりにリン酸化された  $\beta$  アドレナリン受容体に結合する。フォスファターゼが  $\beta$  アドレナリン受容体を脱リン酸化するとアレスチンは  $\beta$  アドレナリン受容体より遊離し、 $\beta$  アドレナリン受容体は最初の状態に戻る。 $\alpha$ ,  $\beta\gamma$ : GTP 結合蛋白質サブユニット, GRK: G 蛋白質共役受容体キナーゼ, PrP: フォスファターゼ

て血清抗体価を比較したところ有意に再発期に高い結果を示した。さらにアレスチン分子中の抗原部位を蛋白質化学的手法を用いて検討したところ実験ぶどう膜炎を引き起こす部位とほぼ同じであった。興味深いことにこの部位のアミノ酸配列は実験脳炎を引き起こす virus の一部のそれと相同性が高かった。従って以上の事から、血清アレスチン抗体が MS の病勢を推定するパラメーターになる可能性を示唆した。さらにこれ以外に視神経炎を再発し MS と診断された症例、小児の視神経炎の症例および異常眼球運動を示した症例の 3 症例においても血清アレスチン抗体が陽性であった<sup>7)</sup>。特に後者の 2 症例はいずれも初発の症例で MS の診断基準を満たさないが今後 MS に移行するかどうか経過観察中である。

#### 謝 辞

本稿を終えるにあたり御校閲を賜った本学眼科学講座教授中川喬先生並びに第一生化学講座講師相馬仁先生に感謝します。

#### 参考文献

1. Palczewski K, Benovic JL. G-protein-coupled receptor kinases. Trends Biochem Sci 1991, 16: 387-391.
2. Inglese J, Freedman NJ, Koch WJ, Lefkowitz RJ. Structure and mechanism of the G protein-coupled receptor kinases. J Biol Chem 1993, 268: 23735-23738.
3. Zhao X, Palczewski K, Ohguro H. Mechanism of rhodopsin phosphorylation. Biophys Chem 1995, 56: 183-188.
4. Palczewski K. Structure and function of arres-

- tin. *Protein Sci* 1994, 3: 1355-1361.
5. Wacker WB, Donoso LA, Kalsow CM, Yankeelov JA, Organisciak DT. Experimental allergic uveitis. Isolation, characterization, and localization of a soluble uveitopathogenic antigen from bovine retina. *J Immunol* 1977, 119: 1949-1958.
  6. Ohguro H, Chiba S, Igarashi Y, Matsumoto H, Akino T, Palczewski K.  $\beta$ -arrestin and arrestin recognized by autoantibodies in sera from multiple sclerosis patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90: 3241-3245.
  7. 大黒 浩, 五十嵐保男. 血清アレステン抗体とMS関連疾患. *神経眼科* 1995, 12: 16-20.
  8. Shinohara T, Dietzschold B, Craft CM, Wistow G, Early JJ, Donoso LA, Horwitz J, Tao R. Primary and secondary structure of bovine retinal S antigen (48-kDa protein). *Proc Natl Acad Sci USA* 1987, 84: 6975-6979.
  9. Shinohara T, Kikuchi T, Tsuda M, Yamaki K. A family of S-antigen (arrestins) and their genes: Comparative analysis of human, mouse, rat, bovine, and *Drosophila*. *Comp Biochem Physiol* 1992, 103B: 505-509.
  10. Murakami A, Yajima T, Sakuma H, McLaren MJ, Inana G: X-arrestin: A new retinal arrestin mapping to the X chromosome. *FEBS Lett* 1993, 334: 203-209.
  11. Craft CM, Whitmore DH, Wiechmann AF. Cone arrestin identified by targeting expression of a functional family. *J Biol Chem* 1994, 269: 4613-4619.
  12. Lohse MJ, Benovic JL, Codina J, Caron MG, Lefkowitz RJ. b-arrestin: A protein that regulates b-adrenergic receptor function. *Science* 1990, 248: 1547-1550.
  13. Attradamal H, Arriza JL, Aoki C, Dawson TM, Codina J, Kwatra MM, Snyder SH, Caron MG, Lefkowitz RJ. b-arrestin-2, a novel member of the arrestin/b-arrestin gene family. *J Biol Chem* 1992, 267: 17882-17890.
  14. Sterne-Marr R, Gurevich VV, Goldsmith P, Bodine RC, Sanders C, Donoso LA, Benovic JL: Polypeptide variants of  $\gamma$ -arrestin and arrestin3. *J Biol Chem* 1993, 268: 15640-15648.
  15. Levine H, Smith DP, Whitney M, Malicki DM, Dolph PJ, Smith GFH, Burkhard W, Zucker CS. Isolation of a novel visual-system-specific arrestin: An in vivo substrate for light-dependent phosphorylation. *Mech Dev* 1990, 133: 9-25.
  16. Yamada T, Takeuchi Y, Komori N, Kobayashi H, Sakai Y, Hotta Y, Matsumoto H. A 49 kilodalton phosphoprotein in the *Drosophila* photoreceptor is an arrestin homolog. *Science* 1990, 248: 483-486.
  17. Hyde DR, Mecklenburg KL, Pollock JA, Vihetelic TS, Benzer S. Twenty *Drosophila* visual system cDNA clones: One is a homolog of human arrestin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87: 1008-1012.
  18. Smith DP, Shieh BH, Zucker CS. Isolation and structure of an arrestin gene from *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87: 1003-1007.
  19. Danciger M, Kozak CA, Tsuda M, Shinohara T, Farber DB. The gene for retinal S-antigen (48 kDa protein) maps to the centromeric portion of mouse chromosome 1 near *Idh-1*. *Genomics* 1989, 5: 378-381.
  20. Ngo JT, Klisak I, Sparkes R/S, Mohandas T, Yamaki K, Shinohara T, Bateman JB. Assignment of the S-antigen gene (SAG) to human chromosome 2q24-q37. *Genomics* 1990, 7: 84-87.
  21. Tsuda M, Syed M, Burga K, Whelan JP, McGinnis JF, Shinohara T. Structural analysis of mouse S-antigen. *Gene* 1988, 73: 11-20.
  22. Tsuda M, Kikuchi T, Yamaki K, Shinohara T. The mouse S-antigen gene. Comparison with human and *Drosophila*. *Eur J Biochem* 1991, 200: 95-101.
  23. Yamaki K, Tsuda M, Kikuchi T, Chen KH, Huang KP, Shinohara T. Structural organization of the human S-antigen gene. cDNA, amino acid, intron, exon, promoter, invitro transcription, retina, and pineal gland. *J Biol Chem* 1990, 265: 20757-20762.
  24. Buczylo J, Palczewski K. Purification of bovine arrestin. *Methods Neurosci* 1993, 15: 226-236.
  25. Ohguro H, Palczewski K, Walsh KA, Johnson RS. Topographic study of arrestin using differential chemical modifications and hydrogen/deuterium exchange. *Protein Sci* 1994, 3: 2428-2434.
  26. Palczewski K, Riazance-Lawrence JH, Johnson WC. Structural properties of arrestin studied by chemical modification and circular dichroism. *Biochemistry* 1992, 31: 3902-3906.
  27. 大黒 浩, 秋野豊明. 光情報の細胞内伝達機構の生化学. *細胞* 1990, 22: 137-140.
  28. 大黒 浩, 秋野豊明. 光の受容と伝達. *遺伝* 1991, 25: 19-24.
  29. 大黒 浩. 視細胞における光情報変換及び制御機構.

- 神経眼科 1994, 11: 308-310.
30. 大黒 浩, 秋野豊明. 視細胞における情報. 若倉雅登編: 眼科 New insight ①視覚情報処理. 東京 メヂカルビュー社, 1994, 10-20.
  31. Kelleher DJ, Johnson GL. Phosphorylation of rhodopsin by protein kinase C *in vitro*. J Biol Chem 1986, 261: 4749-4757.
  32. Newton AC, Williams DS. Involvement of protein kinase C in the phosphorylation of rhodopsin. J Biol Chem 1991, 266: 17725-17728.
  33. Kuhn H, Hall DW, Wilden U. Light-induced binding of 48-kDa protein to photoreceptor membrane is highly enhanced by phosphorylation of rhodopsin. FEBS Lett 1984, 176: 473-478.
  34. Wilden U, Hall SW, Kuhn H. Phosphodiesterase activation by photoexcited rhodopsin is quenched when rhodopsin is phosphorylated and bind the intrinsic 48-kDa protein of rod outer segments. Proc Natl Acad Sci USA 1986, 83: 1174-1178.
  35. Fukada Y, Yoshizawa T, Saito T, Ohguro H, Akino T. Binding of GTP to transducin is not inhibited by arrestin and phosphorylated rhodopsin. FEBS Lett 1990, 261: 419-422.
  36. Hofmann KP, Pulvermuller A, Buczylo J, Van Hooser JP, Palczewski K. The role of arrestin and retinoids in the regeneration pathway of rhodopsin. J Biol Chem 1992, 267: 15701-15706.
  37. Palczewski K, Pulvermuller A, Buczylo J, Hofmann KP. Phosphorylated rhodopsin and heparin induce similar conformational changes in arrestin. J Biol Chem 1991, 266: 18649-18654.
  38. Puig J, Arendt A, Tomson FL, Abdulaeva G, Miller R, Hargrave PA, McDowell JH. Synthetic phosphopeptide from rhodopsin sequence induces retinal arrestin binding to photoactivated rhodopsin unphosphorylated rhodopsin. FEBS Lett 1995, 362: 185-188.
  39. Gurevich VV, Benovic JL. Visual arrestin interaction with rhodopsin. Sequential multisites binding ensures strict selectivity toward light-activated phosphorylated rhodopsin. J Biol Chem 1993, 268: 11628-11638.
  40. Purrti G, Peracchia F, Salles M, Ambrosini G, Masini M, Rotilio D, DeBlasi A. Molecular analysis of human  $\beta$ -arrestin-1: Cloning, tissue distribution and regulation of expression. Identification of two isoforms generated by alternative splicing. J Biol Chem 1993, 268: 9753-9761.
  41. Sterne-Mar R, Gurevich VV, Goldsmith P, Bodine RC, Sanders C, Donoso LA, Benovic JL. Polypeptide variants of  $\beta$ -arrestin and arrestin3. J Biol Chem 1993, 268: 15640-15648.
  42. Palczewski K, Buczylo J, Ohguro H, Annan RS, Carr SA, Crabb JW, Johnson RS, Walsh KA. Characterization of truncated form of arrestin isolated from bovine rod outer segments. Protein. Sci 1994, 3: 314-324.
  43. Smith CW, Milam AH, Dugger D, Adrenndt A, Hargrave PA, Palczewski K. Splice variant of arrestin: Molecular cloning and localization in bovine retina. J Biol Chem 1994, 269: 15479-15410.
  44. Gery I, Mochizuku M, Nussenblatt RB. Retinal specific antigens and immunopathogenic process they provoke. Prog Retinal Res 1986, 5: 75-109.
  45. Shinohara T, Singh VK, Tsuda M, Yamaki K, Abe T, Suzuki S. S-antigen: from gene autoimmune uveitis. Exp Eye Res 1990, 50: 751-757.

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学医学部眼科学講座 大黒 浩