

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（Ⅱ）

平成18年度

政策創薬総合研究

重点研究報告書（Ⅱ）

目 次

KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法 (DLI) の実用化	藤原成悦 ……	589
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆宇 ……	636
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 ……	656
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 ……	671
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 ……	680
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 ……	691
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 ……	707
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 ……	720
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 ……	728
KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 ……	740
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 ……	761
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 ……	772
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 ……	783
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 ……	795
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 ……	814
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 ……	826
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 ……	836
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 ……	839
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 ……	919
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 ……	939
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法の確立に関する研究	乾 賢一 ……	951
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 ……	966

KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 979
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 …… 1000
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込型細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森 静志 …… 1021
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾 和人 …… 1042
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野 泰雄 …… 1054
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田 康文 …… 1070
KHB1201	タンパクリン酸化酵素SIKの糖・脂質代謝における役割と創薬標的評価系の開発	竹森 洋 …… 1080
KHB1202	家族性黄斑変性カニクイザルを用いた加齢黄斑変性の新規治療及び予防薬の開発	寺尾 恵治 …… 1086
KHC1203	弱毒性ウイルスワクチンの品質向上、生産性向上に関する研究	大隈 邦夫 …… 1090
KHC1204	チオレドキシニンなど抗酸化反応性活性酸素種処理分子の高発現を促す新しい健康増進医薬の開発	井上 達 …… 1096
KHC2206	腹膜癒着予防剤の開発と応用	土肥多恵子 …… 1106
KHD1205	ヒト乾燥羊膜の機能再生医療材料への実用化に関する研究	阿久津英憲 …… 1111
KHD2207	ヒト由来細胞・組織バンクの活用拡大のためのシステム構築と研究資源の高度化に関する研究	後藤 雄一 …… 1115

ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価

所・属 東京大学大学院薬学系研究科
研究者 澤田 康文

研究要旨：ヒト胎盤灌流実験の結果を基に非臨床試験からヒトにおける医薬品の胎児毒性を定量的に予測するための方法を提唱できた。また、ヒト胎盤由来の単離されたトロホプラスト細胞の特性を明らかにし、薬物胎盤透過性評価への適用について有用な知見を得た。

分担研究者

- (1) 東京大学大学院薬学系研究科 大谷壽一、堀 里子
- (2) 九州大学大学院医学研究院 月森清巳

A. 研究目的

薬物の有害反応の中でも、胎児毒性は最も注意しなければならない毒性の一つである。一方、妊娠中にもかかわらず薬物の投与を受けなければならない妊婦も少なからず存在する。しかし、現在臨床使用されている薬物の多くは、妊婦に投与した場合、胎児に対する安全性が保証されていない。

母体に投与された薬物などの生体異物は胎盤を介して胎児へと移行するため、薬物の胎児毒性を評価する上では、その胎盤透過性、胎児移行性を評価することが必要不可欠である。

我々は昨年度までに、ヒト胎盤を用いて、さまざまなプロトコルで薬物を灌流し、胎児側並びに母体側の流出灌流液中薬物濃度と、灌流終了時点における胎盤中薬物濃度を測定することで、薬物の経胎盤輸送に関する詳細な pharmacokinetic 解析を行った。さらに、この実験法・解析法を用いて、3 種の非ステロイド性消炎鎮痛薬 (NSAIDs) の経胎盤透過に関する詳細な薬物動態パラメータを算出し、ヒトにおける胎児血中濃度推移を予測するとともに、シクロオキシゲナーゼ (COX) の阻害活性との比較を行った。本年度は、ヒトにおける NSAIDs の胎児毒性の直接的な指標である胎児動脈管収縮作用の既報値に薬物動態学的解析を加えることで、胎児動脈管収縮強度をモデルシミュレーションにより予測することを試みた。

また、昨年度までに胎盤灌流実験の研究対象とした薬物 (NSAIDs) 以外にも、近年では抗うつ薬の一種である選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI; selective serotonin reuptake inhibitor) を服用中の母親から生まれた新生児が、SSRI の中毒症状や退薬症状を呈する例が報告されるようになった。しかし、本邦において頻用されている SSRI である塩酸パロキセチンやフルボキサミンに関する胎盤透過性のデータはなく、また我々が構築したモデルを用いた薬物動態学的モデル解析は行われていない。そこで本年度は、パロキセチンの胎盤透過特性を明らかにし、パロキセチンによる胎児毒性発現機構の解明に寄与することを目的とした。

我々は昨年度までの研究において、胎盤組織における MCTs, OATs, OATPs アイソフォームを mRNA レベルで確認してきた。しかし、OATPs に関しては、単離トロホプラスト細胞や各種の胎盤絨毛癌由来培養細胞における発現確認は行っておらず、また近年新たに報告されたアイソフォーム (現在までに 11 のヒト OATPs 遺伝子が同定されている) についても十分検討されていない。したがって、本年度は、ヒト胎盤組織、単離トロホプラスト細胞ならびに各種の胎盤絨毛癌由来培養細胞で、11 種の OATPs アイソフォームの発現の有無を確認することとした。

また我々は既に、胎盤組織からのトロホプラスト細胞の単離法を確立し、単離トロホプラスト細胞への estrone-3-sulfate の担体依存的取り込みの可能性を示してきた。しかしプレート上の培養細胞と異なり、トランスウェル上で細胞を初代培養

し、シンシチオトロホプラスト細胞層を形成させることができれば、方向性のある薬物輸送を定量的に評価することが可能となる。そこで本年度は、単離トロホプラスト細胞への基質の取り込みについてさらに検討するとともに、培養細胞の分化・増殖調節に関しても検討を行なうこととした。また、培養日数の経過に伴う OATPs の発現変動についても検討した。

昨年度までの検討では、サリチル酸の経胎盤輸送における担体の寄与と、胎盤におけるモノカルボン酸輸送担体 (MCTs) の発現が示されている。そこで、モノカルボン酸であるサリチル酸、イブプロフェン、バルプロ酸が MCTs の基質や阻害剤となるかを検討した。

B. 研究方法

B-1. ヒトにおける NSAIDs の胎児毒性の予測

昨年度に報告した、サリチル酸、ジクロフェナクならびにアンチピリンの胎盤灌流の結果を解析して得られた各薬物の経胎盤移行パラメータ (TP-PK パラメータ) を解析に用いた。成人に常用量のジクロフェナク、サリチル酸又はアンチピリンを経口投与後の血漿中濃度推移を文献より収集し、それらから求めた連続経口投与時の血漿中非結合型濃度を入力関数として、TP-PK パラメータから胎児血中濃度推移を予測した。続いて、胎児毒性に関する pharmacodynamic (PD) パラメータを、妊娠ラットに NSAIDs を投与後の胎仔の動脈管収縮作用の用量依存性を検討した文献と、妊娠ラットに NSAIDs を投与後の胎仔における薬物の体内動態を検討した文献から求めた。そして、ヒトにおける推定胎児中血漿中濃度推移と、求めた PD パラメータから、ヒトにおいて母親が常用量の NSAIDs を経口服用した後の、胎児動脈管収縮作用の経時推移を推定した。

B-2. パロキセチンの定量法と胎盤灌流

灌流液試料中における 1 ng/mL のパロキセチンを HPLC-UV 法で定量するための条件を検討した。すなわち、灌流液試料からのパロキセチンの抽出率に及ぼす有機溶媒の組成、抽出時の水相の pH、検出波長、液相-液相抽出における抽出操作、移動相の組成等が定量の感度、選択度、精度に及ぼす影響について検討を行った。パロキセチンの胎盤灌流実験においては、灌流液中に含まれるパロキセチンの濃度を 50 ng/mL とし、昨年

までに報告した方法と同様の方法によりヒト胎盤灌流実験を行った。

B-3. OATPs アイソフォームの発現確認

OATPs アイソフォームの発現確認は RT-PCR 法により行なった。まず、単離トロホプラスト細胞ならびに各種絨毛癌由来培養細胞 (BeWo 細胞、JAR 細胞、JEG-3 細胞) から抽出した total RNA を鋳型に逆転写を行い cDNA を得た。続いて、得られた cDNA を鋳型に PCR を行なった。

B-4. 単離トロホプラスト細胞の特性評価、増殖・合胞体化

単離トロホプラストへの estrone-3-sulfate 取り込みのキネティクスを検討した。次いで、培養条件がトロホプラスト細胞に与える影響を検討するため、様々な条件において培養を行なった。単離細胞をディッシュに播種し、12 時間後、続いて 24 時間ごとに培地を交換し、その際に細胞の形態を位相差顕微鏡下で観察した。この際に EGF, SB203580, sodium nitroprusside, estradiol の作用についても評価した。

B-5. MCTs の特性解析

胎盤に発現しているヒト MCT のなかでも代表的な MCT1 及び MCT4 を検討の対象とした。輸送機能の評価は、アフリカツメガエル卵母細胞外来遺伝子発現系を用いて、卵母細胞への基質の取り込み並びに取り込みの阻害により評価した。ヒト MCT4 全長 cDNA はヒト胎盤組織よりクローニングして用いた。卵母細胞への放射性標識した基質の取り込みは、常法に従った。

(倫理面への配慮)

本研究は、九州大学医学研究院等倫理委員会及び東京大学医学部の倫理委員会より承認を受けた上で遂行した。研究にあたっては上記委員会による承認された研究計画を遵守するとともに、胎盤の提供については、上記委員会により承認された書式の提供同意書を用いて文書による同意を得た上で研究に供した。

なお、本研究においては、胎盤試料は連結不可能匿名化としており、胎盤提供者の個人情報は削除された形で研究に供されている。

C. 研究結果

C-1. ヒトにおける NSAIDs の胎児毒性の予測

妊娠末期の妊婦に NSAIDs を投与した場合の、

各薬物の胎児毒性（動脈収縮作用）の予測プロファイルを示す。アンチピリンやサリチル酸は、妊婦が常用量摂取してもほとんど動脈収縮を引き起こさないと推定されたのに対して、ジクロフェナクは、妊婦が常用量摂取した場合、胎児において動脈収縮を引き起こす可能性が高いと予測された。

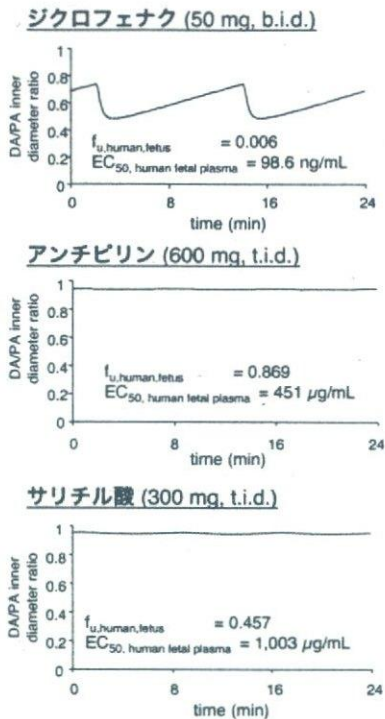


Figure 1. ヒトにおいて母親に常用量の NSAIDs を投与した際の胎児における NSAIDs の胎児毒性（動脈収縮プロファイル）の推定推移 (DA: 動脈管, PA: 主肺動脈)

C-2. パロキシセチンの定量法と胎盤灌流

定量条件を種々検討した結果、500 µL の灌流液中における 1 ng/mL のパロキシセチンを定量するための方法を確立できた。ヒト胎盤灌流系において母体側より 50 ng/mL のパロキシセチンを灌流した結果、胎児側流出灌流液中濃度は、灌流開始後 30 分まで定量限界 (1 ng/mL) 以下と非常に低く推移した。

C-3. OATPs アイソフォームの発現確認

胎盤組織及び単離トロホプラスト細胞のいずれにおいても、主に OATP-B, D, E, 及び PGT (prostaglandin transporter) が mRNA レベルで発現していた。これに対して、BeWo, JAR, JEG-3 細胞においては、OATP-B, D の発現は弱く、OATP-E の発現が優位であったほか、胎盤組織や単離トロホプラストでは発現が見られなかった OATP-A

が強く発現していた。

C-4. 単離トロホプラスト細胞の特性評価、増殖・合胞体化

ヒト胎盤からサイトトロホプラスト細胞を収率、生存率良く単離することができた。単離したトロホプラスト細胞は、3日から4日の培養により、細胞の融合が観察された。培養4日目における OATPs の典型的基質である estrone-3-sulfate の取り込みは、濃度依存的で飽和性を示し、Km 値は 1.71 µM であった。SNP 存在下で培養したところ、培養8日目まで細胞の融合は観察されなかったが、細胞の増殖もみられなくなった。EGF および SB203580 を同時に加えた条件下で培養したところ、細胞の融合が見られず、培養日数の経過に伴って細胞が増殖した。しかし、経細胞輸送を評価できる条件、すなわちトランスウェル上に十分な膜抵抗を有する条件で培養を行うことはできなかった。培養に伴う OATPs の発現変動について、2ロットの細胞において検討したところ、OATP-D, E の発現量は、培養6日目まで大きな変化はみられなかったのに対して、PGT, OATP-B については、ロットごとに異なる様式で、培養日数の経過とともに発現量が大きく増加した。

C-5. MCTs の特性解析

MCT1 及び MCT4 cRNA を注入した卵母細胞は、水を注入した卵母細胞と比較して [¹⁴C]乳酸を有意に取り込んだ。

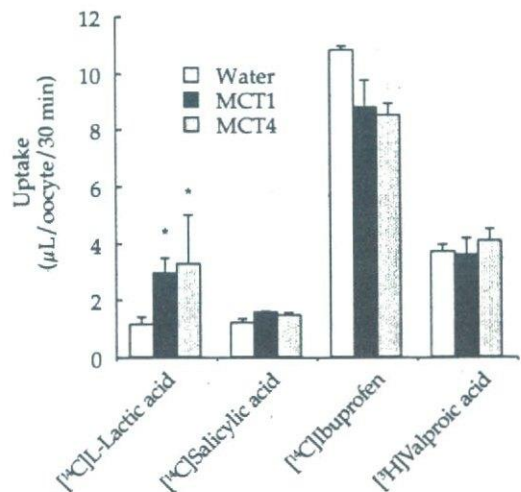


Figure 2. MCT1 及び MCT4 発現卵母細胞への各種モノカルボン酸の取り込み。(n=5~6, 平均±SEM, *, p<0.05 vs water-injected)

しかし、 [¹⁴C]サリチル酸、 [¹⁴C]イブプロフェン、

[³H]バルプロ酸の取り込みは、MCT1 及び MCT4 cRNA を注入した卵母細胞においても有意な上昇が見られなかった(Figure 2)。

一方、10 mM バルプロ酸、1 mM イブプロフェン、1 mM ジクロフェナクはいずれも、MCT1 を介した乳酸の取り込みを有意に阻害した。サリチル酸及びイブプロフェンの MCT1 阻害の IC₅₀ (50% 阻害濃度) はそれぞれ 0.17 及び 0.53 mM であった。MCT1 を介した乳酸輸送の K_t 値は 1.39 mM であった。

D. 考察

昨年までの検討により、さまざまな灌流プロトコルでのヒト胎盤灌流実験により、胎盤透過に関する詳細な PK パラメータが得られることを示した。しかし臨床的側面からは、得られたパラメータをどのようにして薬物の胎児毒性の予測に役立てるかが重要である。そこで今回は、妊娠ラットを用いた薬物動態試験及び胎児毒性試験の結果を統合して解析することにより、妊婦が薬物を使用した際の胎児毒性の経時的プロファイルを定量的に予測できる可能性が示された。このような予測法は、今まで提案されておらず、本研究班による成果である胎盤灌流のモデル解析と、既報の動物を用いた胎児毒性試験を統合することにより、初めて可能になったものといえよう。今回の解析から得られた結果、すなわち検討した 3 種の NSAIDs の中でジクロフェナクが最も危険性が高いという予測結果は、添付文書に反映された現在の臨床的知見と良好に一致している。今回のようなヒト胎盤灌流系を応用した胎児毒性の予測を市販前(開発)段階で行うことにより、薬物による胎児毒性を未然に防ぐことが可能となるだろう。

また、パロキセチンの胎盤灌流実験の結果、得られた TPIss 値 (0.8% 程度) は、昨年までに検討した 3 種の NSAIDs や、過去に報告されている同じ SSRI のシタロプラムやフルオキセチンと比較しても小さかった。これは、真の TPIss が小さいのではなく、胎盤透過自体が遅く定常状態への到達に時間がかかっているためかもしれない。

胎盤におけるアニオン系薬物の透過に重要な役割を果たしていると考えられる OATPs は、現在ヒトにおいて 11 のアイソフォームが報告されている。今回、ヒト胎盤組織および単離トロホプラスト細胞には PGT、OATP-B, D, E が発現してい

ることが確認された。PGT はプロスタグランジン類を基質とすることから、プロスタグランジン類の経胎盤透過に関わっている可能性が高いが、OATP-B, D, E の生理的役割については不明である。また、ヒト胎盤組織や単離トロホプラスト細胞と比較して、絨毛癌由来培養細胞では OATPs の発現プロファイルが異なっていた。絨毛癌由来培養細胞はトロホプラスト細胞のモデル細胞として、過去に様々な検討が行われているが、それらを用いてアニオン系薬物の輸送における OATPs の寄与を解析した場合には誤った結論を導く可能性があるかもしれない。生理的状態での OATPs 発現プロファイルを維持した単離トロホプラスト細胞の方が、実験系として優れていることを示す知見といえるだろう。なお、単離トロホプラスト細胞を初代培養し、OATPs 発現量の変化を継続的に検討したところ、PGT および OATP-B は培養日数に伴って発現量が大幅に増加しており、またその挙動は個々の胎盤によって異なる可能性も示唆されたが、この点についてはさらなる検討が必要かもしれない。また、単離トロホプラスト細胞は輸送担体の発現が生理的状態に近いという利点はあるが、絨毛癌由来培養細胞は透過性膜上に単層に培養し、方向性のある経細胞輸送経路を観測できるという利点がある。そこで、生理的な輸送担体の発現を維持しつつ経細胞輸送を評価するためには、透過性膜上で単離トロホプラストを培養し、十分な膜抵抗が得られた条件下で合胞体化して輸送を観測することが望ましい。しかし昨年度までの検討において、トランスウェル上に播種した単離細胞はシンシチオ化してはいるもののメンブレンの全面を被覆するには至っていないことが示された。本年度の研究でも様々な条件を検討したが、十分な膜抵抗を有するに至るような適切な培養条件を見出すことはできなかった。より生理的条件を反映した単離トロホプラスト細胞による薬物輸送の評価系を構築するためには、トランスウェル上で培養し、シンシチオトロホプラスト細胞層を形成させる必要がある。したがって、今後、トランスウェル上にシンシチオトロホプラスト細胞層を形成することが可能な培養条件が確立されることが望まれる。

これまでの研究により、MCTs もまた、OATPs と並んでアニオン性薬物の胎盤透過に重要な役割を果たしている可能性を示してきた。すなわち、

サリチル酸の経胎盤透過が乳酸により阻害されたことなどから、サリチル酸の胎児移行には何らかの能動的な輸送担体が寄与している可能性が考えられ、一方で胎盤において MCTs が発現していることも確認した。そこで本研究では、MCTs の中でも MCT1 と MCT4 に対象を絞り、サリチル酸の経胎盤輸送における MCTs の寄与について解明を試みた。MCT1 及び今回クローニングした MCT4 の cRNA を注入したアフリカツメガエル卵母細胞は、いずれも MCTs の典型的基質である乳酸を有意に取り込んだが、サリチル酸、イブプロフェン、バルプロ酸はどれも MCT1、MCT4 いずれの基質にもならなかった。したがって、これら薬物の胎児移行には、MCT1 や MCT4 の寄与は小さいかもしれない。このため、他の MCT アイソフォームについても同様の検討を行い、各薬物がいずれかの MCTs を介して胎盤を透過しているか否か、検討する必要があるだろう。サリチル酸、イブプロフェン、バルプロ酸は基質にはならなかったが、MCT1 を介した乳酸の取り込みを比較的強く阻害した。この阻害が妊娠期において生理的、臨床的に意義があるか否かについては、今後の解明を待たねばならないだろう。

E. 結論

さまざまな灌流プロトコルによりヒト胎盤灌流実験を行うことで、胎盤透過に関する詳細な PK パラメータが得られるが、これに妊娠ラットを用いた薬物動態試験及び胎児毒性試験の結果を統合して解析することにより、妊婦が薬物を使用した際の胎児毒性の経時的プロファイルを定量的に予測できる可能性が示された。本方法論は、開発段階で医薬品の胎児毒性を定量的に予測するための有用な方法論となりうる。

また、薬物の胎盤透過機構を解明するにあたっては、絨毛癌由来培養細胞がトロホプラスト細胞のモデル細胞として広く用いられているが、ヒト胎盤組織や単離トロホプラスト細胞と比較して、薬物輸送担体の発現プロファイルが異なることが示された。したがって、薬物の胎盤透過機構を詳細に検討するにあたっては、ヒト胎盤由来の単離トロホプラスト細胞を使用することが望ましいと考えられた。

酸性 NSAIDs の胎盤透過機構には、MCT1 や MCT4 が関与している可能性は低いと考えられた。

これらの胎盤透過機構を考える上では、他の MCT の寄与について検討する必要があるだろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) K. Shintaku, Y. Arima, Y. Dan, T. Takeda, K. Kogushi, M. Tsujimoto, H. Nagata, S. Satoh, K. Tsukimori, H. Nakano, S. Hori, H. Ohtani and Y. Sawada. Kinetic analysis of the transport of salicylic acid, an NSAID, across human placenta. *Drug Metab. Dispos.*, **35**(5): in press, 2007 (ePub ahead of Print; 20/Feb/2007)

2. 学会発表

- 1) 澤田康文, 新宅恭平, 辻本雅之, 永田秀昭, 佐藤昌司, 月森清巳, 中野仁雄, 堀里子, 大谷壽一. NSAIDs による胎児毒性予測のための医薬品情報の構築—非臨床試験データの PK/PD に基づく解析—. 第 9 回日本医薬品情報学会総会・学術大会 (京都, 2006 年 7 月), 講演要旨集 p 77
- 2) 大谷壽一, 新宅恭平, 辻本雅之, 永田秀昭, 佐藤昌司, 月森清巳, 中野仁雄, 堀里子, 澤田康文. ヒト胎盤灌流法に基づく各種非ステロイド性消炎鎮痛剤の胎児毒性の予測評価. 第 16 回日本医療薬学会年会 (金沢, 2006 年 9 月), 講演要旨集 p 546
- 3) 澤田康文. 非臨床・臨床データによる胎児毒性評価と予測. 2006 年度東京大学薬学部先端創薬科学講座セミナーコース (東京, 2007 年 3 月)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成18年度
政策創薬総合研究
重点研究報告書(Ⅱ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル(小伝馬町駅前)4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社