

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：17702

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H02181

研究課題名(和文)骨組織の力学的反応性を調節するプレコンディショニング磁場刺激の役割

研究課題名(英文) Role of preconditioning with magnetic field stimulation in the mechanoreponse of bone tissue

研究代表者

田巻 弘之 (TAMAKI, Hiroyuki)

鹿屋体育大学・スポーツ生命科学系・教授

研究者番号：40253926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：筋収縮力は、骨にメカニカルストレスを与える重要な因子のひとつである。骨メカノセンシビリティは加齢や不働により低下する傾向にある。骨への運動(力学的)刺激効果を改善する観点から、力学的刺激前に処方するプレコンディショニングの効果について、パルス及び静磁場刺激(プレ磁場刺激)を用いて検討した。その結果、不働による骨量低下及び骨梁構造の脆弱化は磁場刺激のみでは改善しなかったが、プレコンディショニング磁場刺激は高齢期の廃用性骨萎縮の軽減効果を促進した。またその効果の現れ方は磁場強度条件に依存した。プレコンディショニング磁場刺激は、骨組織の力学的反応性を条件依存的に調整する役割がある可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、不働による骨量低下や骨組織の構造破壊の改善にプレコンディショニング磁場刺激が条件依存的に高齢期においてもポジティブに機能することを示す結果を得た。不働期間の長さにより骨への運動刺激効果が現れにくくなる問題に関して、プレコンディショニング磁場刺激が機械的刺激への反応性を調整するツールとして、運動処方プログラムの開発等にも貢献する可能性がある。特に、骨ひずみを得にくい高齢期の骨の力学的感度の改善に意義を有する。

研究成果の概要(英文)：Muscle contraction force is one of the significant factors that drives beneficial mechanical stress on bone in vivo. Bone mechanosensitivity tends to decrease with aging and disuse. We investigated the effects of preconditioning with static and pulsed magnetic field stimulation prior to the intervention of repetitive mechanical stimulation on reduction in disuse-induced bone loss in order to improve the effects of mechanical stimulation on bone tissue in aged rats. Intervention of magnetic stimulation alone did not improve the disuse-induced bone loss and deterioration of trabecular bone architecture. Preconditioning with magnetic field stimulation prior to the intervention of mechanical stimulation promoted the reduction effects of disuse-induced bone loss in aged rats in dependent on the intensity of magnetic field stimulation. The results suggest that the preconditioning with magnetic field stimulation on bone tissue have an effect on changing the mechanoreactivity.

研究分野：骨代謝

キーワード：骨組織 メカニカルストレス 磁場刺激

## 1. 研究開始当初の背景

筋収縮力の骨量維持効果と骨組織の機械的感受性/反応性(骨メカノセンシティブリティ) 筋収縮力は、骨にメカニカルストレスを与える重要な因子のひとつである。電気刺激による筋収縮力でも歩行時相当の骨ひずみを生じる(200 $\mu\epsilon$ , Sugiyama, JBMR, 2012)。また骨ひずみは微小(5-10  $\mu\epsilon$ )であっても骨形成に有効であり(Rubin, Nature, 2001)、これは運動実施困難者においては朗報となる重要な研究である。この報告以降、骨への一定の力学的な強度が確保されていれば、骨の「ひずみ速度」(strain rate)や 力学的刺激を感知するメカノセンサーである骨細胞の「感受性もしくは反応性」促進が、骨量や構造維持に重要であることが認識されてきている(Sugiyama, 2012)。実際、電気刺激誘発性の筋収縮力を利用して、不動による骨量低下を軽減することが示唆されている。しかも、この効果は、力学的刺激を感知する機械伸展活性化イオンチャネルの薬理的障害で大部分キャンセルされることも報告されている(Tamaki, JMNI, 2014, 2015)。同じ力学的刺激を与えても、骨組織側の機械的感受性・反応性の程度により、効果の現れ方が異なる可能性を示唆しており、より効果的で新たな処方を構想するうえで重要な研究背景となっている。

これらの経緯から解決が望まれる点は、加齢や不動による骨量低下を低強度刺激でも軽減できるが、長期的にはその効果が減弱する点である。この問題解決に、上記の観点からは「至適な骨ひずみ速度の検証」が必要であり、この力学的刺激に対する感受性の観点からは、非侵襲的で痛みもなく実用的な利点を持つことから、パルス磁場及び静磁場刺激を用いて神経や骨組織で促進・抑制効果が明らかにされてきており、その感受性・反応性を調節する可能性を示してきた(Tamaki, JBSE, 2010, Kirimoto, Scientific Rep, 2016)。これら磁場刺激は、細胞膜リン脂質の変形(Lu, 2014)、電位依存型Na<sup>+</sup>チャネルやCa<sup>2+</sup>チャネルの活動閾値を変調し(Rosen, 2003)、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の増加(McCreary, 2006)を促すなどの機序が報告されており、骨組織においても、骨芽細胞数の増加や骨形成因子の産生増加等が国内外で報告されている。実際、これまでに不動や高齢の骨組織について、パルス磁場刺激で骨形成関連因子の遺伝子発現が高まることが確かめられている(Tamaki, 2009, 2011, 2010)。これらの事実から、少なくとも骨組織の機械的感受性・反応性を高めるツールとして磁場刺激を活用できる可能性があり、不動や高齢期など(骨細胞のセンシング機能が悪化して)運動効果が得られにくい対象では、「メカニカルストレスを与える前のコンディショニング刺激」としての磁場刺激の有効性について期待されている。

## 2. 研究の目的

筋収縮力は、骨にメカニカルストレスを与える重要な因子のひとつであり、低強度刺激でも骨量低下を軽減できる。しかしながら、加齢や不動による筋萎縮が惹起された状態では、長期的にはその効果が減弱する問題、課題がある。本研究では、骨組織への運動(機械的)刺激効果を改善する観点から、機械的刺激前に予め処方するプレコンディショニングの効果、パルス及び静磁場刺激(プレ磁場刺激)を用いて明らかにする。まず、磁場刺激による骨内磁場強度について刺激条件等の検討を行い、また筋収縮の関与を制限した刺激条件でのプレコンディショニング磁場刺激の効果を明らかにする。さらに電気刺激誘発性筋収縮処方前に応用し、プレコンディショニング磁場刺激の骨量、骨強度に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験対象：動物及び組織

若齢期及び高齢期ラットを対象に、坐骨神経の denervation による不動モデルラットを作成した。本研究課題は、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(日本学会議)を遵守して実施した。

### (2) 処置と採取、測定

坐骨神経の denervation 手術(神経凍結法を用いた坐骨神経の凍結損傷)を行い、下肢不動モデルを作成し、下肢筋骨格筋や骨の萎縮を惹起した。これらの不動モデルラットの下肢筋への電気刺激効果を検証するために、また電気刺激誘発性筋収縮力の骨組織への影響を検証するために、低頻度筋電気刺激処方を前脛骨筋に経皮的に行った。イソフルラン麻酔下で、最大単収縮張力が得られる刺激強度で、刺激頻度 10Hz、刺激時間を 1 日 30 分間、電気刺激装置を用いて実施した。実験終了後、脛骨並びに前脛骨筋、ヒラメ筋を採取し、湿重量を計測した。また、前脛骨筋の最大筋収縮力を強縮刺激条件で計測した。イソフルラン麻酔下で、電気刺激誘発性に前脛骨筋の収縮張力をフォーストランスデューサーを用いて測定した。強縮刺激時の条件は 50V、150Hz 以上、0.5ms パルス幅で実施した。

磁場刺激による骨内磁場強度の測定に関して、形状(円形、C字型)及び強度(磁束密度)の異なる 9 種類のネオジウム磁石(直径 15-19mm、表面磁束密度 50-580mT)及びパルス磁場刺激装置を用いた。骨幹端部に磁束密度センサープローブ(厚さ 1mm)を設置した脛骨を精密ステージ上に静置し、その上方に各磁石、パルス磁場装置プローブを 9-10 種類の間隔距離で設置し、その時の磁場強度をガウスメーターにて計測した。

採取した脛骨は3次元マイクロCTスキャナーを用いて撮影し、3次元立体構築ソフトを用いて3次元構築した後、構造解析ソフトを用いて骨量(BV/TV)、骨梁幅:Tb.Th、骨梁数:Tb.N、骨梁連結密度:Conn.D、骨梁間距離:Tb.Sp、及び皮質骨構造(Total tissue area, cortical bone area, cortical porosity)を測定し、脛骨骨幹端骨梁の量と微細構造とを評価した(図1)。

また骨の機械的特性として、骨破断強度試験装置を用いて脛骨骨幹中央部に3点支持破断強度試験を行った。その時に得られるLoad-displacement曲線のデータから専用解析ソフトでMaximal load, Stiffness, Elastic modulus, Second moment of areaを計測、算出して評価した(図1)。

採取した組織の処理に関して、パラフィン包埋切片については、採取した脛骨の近位部を正中断して固定後EDTAで脱灰してパラフィン浸漬してブロックを作成した。滑走マイクロームを用いて、縦断薄切試料を作成し組織染色した後、分析に供した。凍結切片については、採取組織を液体窒素冷却イソペンタンで急速凍結し、分析まで-80℃で保存した。また採取した骨組織を用いてreal-time RT-PCRによりbone morphogenetic proteins-2, 4, Transforming growth factor-2, collagen-1, osteocalcin mRNA発現量を調べた。

組織顕微画像解析に関して、採取した骨及び筋組織から顕微鏡観察用の試料を作成し、薄切切片を用いて、脱灰標本において類骨を識別するために吉木法を用いてH-E染色を行った。また骨組織、筋線維に対して各種免疫染色(DMP1, laminin等)を行った。CCDカメラ搭載の蛍光顕微鏡にて蛍光標識された組織切片を観察・撮影し、画像解析ソフトを用いて、骨および筋組織の組織形態計測を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 筋収縮力による機械的刺激のコンディショニング刺激としての磁場刺激の効果について検証するため、磁場刺激による骨内磁場強度について刺激条件等の検討を行った。静磁場刺激において、7種類のネオジウム磁石を用いて磁石の形状および磁束密度の差異、場所や距離の差異による磁場強度の変化の特徴を調べた。本研究で用いた円形形状の磁石ではその直下で約50mTから560mTの磁場強度を示し、その距離が大きくなるにつれて磁場強度が低下した(図2)。距離4-5mmを変曲点として低下勾配が変化した。高磁束密度の磁石を用いて刺激した条件では $r=0.9957$ の高い相関関係を示し、磁場強度が距離依存的に減衰することが示された。パルス磁場刺激においては、10種類の刺激強度と骨内磁場強度とに高い正相関が示され、刺激装置の強度依存的に骨内磁場強度が変化した。また刺激距離の増大に伴い磁場強度が指数関数的減衰を示し、距離が30mm付近でその変曲点が示された。反復磁場刺激により骨形成タンパク質の増大が示され、骨芽細胞の骨形成機能が促進される可能性が示唆された。骨内磁場強度が $50 \pm 10$ mTの範囲を惹起できる設定刺激条件については、静磁場刺激(9種類)で4-15mmの範囲、パルス磁場刺激(10%-30%強度)で10-90mmの範囲となり、静磁場刺激とパルス磁場刺激条件の骨内磁場強度についての対応関係について設定が可能となった。次に、筋収縮力で骨への荷重ストレスを達成する場合、骨格筋の構造的維持や働きは重要な因子であることから、電気刺激で誘発された筋収縮様式の違いによる骨メカニカルストレス(ひずみ)について調べたところ、TA収縮による脛骨の骨ひずみの大きさ(peak strain)やひずみの速さ(strain rate)は静的、動的、伸張性収縮の順に大きいレベルにあった。より大きな骨ひずみを生じさせる伸張性筋収縮では、骨格筋自体の損傷が多く、80収縮/日の処方では48時間後に筋張力も半減した。しかしながら4週間の反復処方では筋線維の損傷程度や筋力低下率は軽減され、繰り返し効果が観察された。

また、パルス磁場刺激の骨組織内細胞への影響を遺伝子発現レベルで検討したところ、40-60mT以上の磁場強度で骨芽細胞の分化に関連するTransforming growth factor-2やbone morphogenetic proteinsのmRNA発現レベルが高まった(図3)。

(2) 骨組織に対する低強度の機械的刺激処方のコンディショニング刺激としての磁場刺激の効果について検証するために、高齢期の下肢不動モデルラットを対象として各種磁場刺激をコンディショニング刺激を用いて、脛骨海綿骨骨量等への影響を3次元マイクロCTスキャナーを用いて調べた。6種類のネオジウム磁石を用いて83~381mTまでの静磁場強度で30分間刺激を行った場合、また機械的刺激のみを処方した場合では、いずれの刺激強度においても脛骨骨梁の骨量(trabecular bone volume)について有意な骨量低下軽減効果を示さなかった。これらの傾向はtrabecular thickness, trabecular number, trabecular separation, connectivity density等の骨梁構造に関するパラメータについても効果を示さなかった。また、機械的刺激前にコンディショニング磁場刺激を実施した場合は、磁場強度が159mT以下の場合では同様に骨量および骨梁構造に対する効果は見られなかったが、磁場強度287mT以上では、単独処方比べて骨量増加を示した(図4)。これらのことから、骨組織への低強度機械的刺激の効果はコンディショニング磁場刺激の条件により異なり、また機械的刺激が効果発現に満たない強度や時間等の条件であっても、磁場刺激条件によっては骨量低下軽減に対して有効性を示す可能性が示唆された。

(3) 骨の機能的評価として骨強度に着目し、3点曲げによる骨破断強度試験を脛骨を対象に実施した。評価項目は、peak load, 破断点強度、破断点ストローク, stiffness, elastic modulus, 最大エネルギーなどを測定し、力学的特徴について検討した。その結果、骨強度(peak load) stiffness等は下肢不動により低下した。これに4種類のネオジウム磁石を用いて83~381mT相当

の磁場刺激を処方したが、いずれの磁場強度でも骨強度低下を軽減する有意な効果はみられなかった。一方、電気刺激誘発性筋収縮処方に先立ってコンディショニング磁場刺激を同強度で行った場合、peak load や stiffness 等において磁場強度 159-287mT において骨強度低下軽減効果が高かったが、それ以外の磁場強度は効果がみられなかった。また、骨構造の評価として、脛骨の三次元マイクロCT撮影を実施し、立体的イメージングを行った。分析項目として trabecular bone volume、bone surface、trabecular number、trabecular thickness、trabecular length、trabecular separation 等の骨梁微細構造解析を行い、微細構造について検証した。その結果、コンディショニング磁場刺激強度が 287mT 以上では骨量低下を軽減する効果がみられたが、それ以下の磁場強度では有意な効果がみられなかった。

(4) 電気刺激誘発性筋収縮力程度でも、不動による骨量低下を軽減する効果をより有効に引き出す手段としてプレコンディショニングとしての磁場刺激について、骨微細構造や骨強度の観点から検討した。また電気刺激誘発性の筋収縮様式の違いによる骨へのメカニカルストレスの違いについてラットの前脛骨筋 (TA) と脛骨を対象に検討し、より有効な介入条件を検索した。下肢不動としたことによる脛骨骨量の低下は、TA への電気刺激誘発性筋収縮により軽減された。骨微細構造 (骨梁幅、骨梁数、骨梁間距離、骨梁連結密度) についても同様であった。この不動による骨量低下は磁場刺激 (なし、低、中、高の 4 種類) のみでは軽減効果は見られなかったが、約 160mT (中程度) 以上の磁場刺激をプレコンディショニングとして与えた場合には骨量低下を軽減する効果が見られた。

以上のことから、プレコンディショニング磁場刺激の不動性骨量低下を軽減する効果は電気刺激誘発性筋収縮処方に於いて有効であるが、その現れ方は磁場刺激条件により異なる可能性が示唆された。

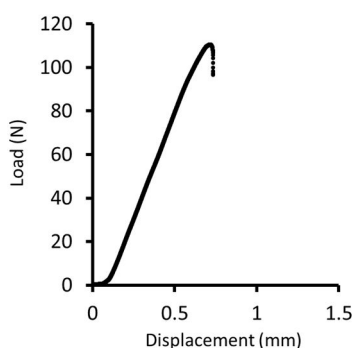


図 1. 3次元マイクロCT スキャナ撮影による皮質骨及び海綿骨の立体構築画像 (右)、3点支持骨破断強度試験における脛骨骨幹中央部の Load-Displacement 曲線。

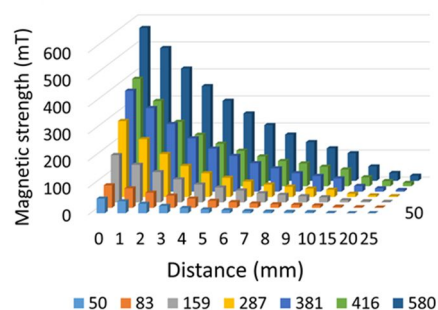


図 2. 各静磁場刺激強度と刺激距離での骨内組織内磁場強度。

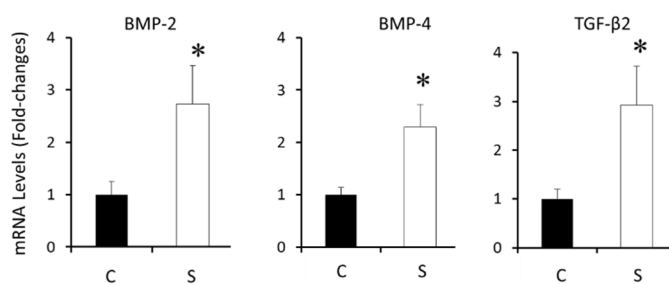


図 3. パルス磁場刺激処方による bone morphogenetic proteins, transforming growth factor-2 mRNA 発現レベルの変化。C: Control 群, S: 刺激群。

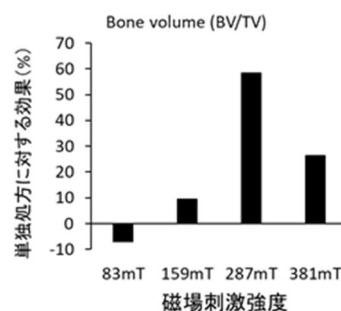


図 4. 各静磁場刺激強度と刺激距離での骨内組織内磁場強度。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Tamaki H, Yotani K, Ogita F, Hayao K, Kirimoto H, Onishi H, Kasuga N, Yamamoto N	4. 巻 16
2. 論文標題 Low-frequency electrical stimulation of denervated skeletal muscle retards muscle and trabecular bone loss in aged rats.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 822-830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijms.32590	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hayao K, Tamaki H, Nakagawa K, Tamakoshi K, Takahashi H, Yotani K, Ogita F, Yamamoto N, Onishi H,	4. 巻 301
2. 論文標題 Effects of streptomycin administration on increases in skeletal muscle fiber permeability and size following eccentric muscle contractions.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anat Rec	6. 最初と最後の頁 1096-1102,
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ar.23770	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kirimoto H, Tamaki H, Otsuru N, Yamashiro K, Onishi H, Nojima I, Oliviero A.	4. 巻 12
2. 論文標題 Transcranial Static Magnetic Field Stimulation over the Primary Motor Cortex Induces Plastic Changes in Cortical Nociceptive Processing.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Hum Neurosci	6. 最初と最後の頁 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnhum.2018.00063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Hayao Keishi, Tamaki Hiroyuki, Tamakoshi Keigo, Takahashi Hideaki, Onishi Hideaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Myofiber Permeability and Force Production of Rat Muscles Following Eccentric Contractions: The Repeated Bout Effect Depends on the Interval	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Science and Engineering	6. 最初と最後の頁 275 ~ 289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4236/jbise.2020.1312025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tamaki H, Yotani K, Hayao K, Ogita F,
2. 発表標題 Characterization of in vivo bone strain of rat tibia during electrical stimulation-induced muscle contraction
3. 学会等名 Journal of Physical Fitness and Sports Medicine
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tamaki H, Yotani K, Ogita F
2. 発表標題 In vivo strain environment and effective strain rate of rat tibia during low-frequency electrical stimulation-induced muscle contraction for reduction of disuse bone loss.
3. 学会等名 Adv Exerc Sports Physiol
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hayao K, Tamaki H, Nakagawa K, Yotani K, Ogita F, Tamakoshi K, Takahashi H, Onishi H, Yamamoto N,
2. 発表標題 Repeated bout effect on myofiber permeability and muscle function that is dependent on the intervals between initial and second bouts of eccentric contractions in rat skeletal muscle.
3. 学会等名 24th Annual Congress of European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田巻弘之, 與谷謙吾, 荻田 太, 早尾啓志, 桐本 光, 大西秀明, 山本智章, 春日規克,
2. 発表標題 刺激強度及び距離の異なる磁場刺激による骨内磁場強度の変化特性.
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 早尾啓志, 田巻弘之, 中川弘毅, 與谷謙吾, 荻田 太, 玉越啓悟, 高橋英明, 山本智章, 大西秀明,
2. 発表標題 筋線維膜透過性亢進及び筋収縮張力に対する伸張性収縮の反復効果.
3. 学会等名 第53回日本理学療法学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tamaki H, Yotani K, Ogita F, Hayao K, Tamakoshi K, Takahashi H, Tsubaki A, Kirimoto H, Onishi H, Kasuga N, Yamamoto N,
2. 発表標題 Streptomycin attenuates the effects of electrical stimulation-induced muscle contraction on reducing trabecular bone loss in the early stages of disuse in old rats.
3. 学会等名 2017 Annual Meeting of American Society for Bone and Mineral Research (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hayao K, Tamaki H, Nakagawa K, Yotani K, Ogita F, Yamamoto N, Kasuga N, Onishi H,
2. 発表標題 The effect of repeated bouts on sarcolemmal permeability and muscle force production after eccentric contractions in rat skeletal muscle.
3. 学会等名 22nd Annual Congress of European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tamaki H, Yotani K, Ogita F,
2. 発表標題 Effects of bone strain of rat tibia during electrical stimulation-induced muscle contraction on bone strength in the early stages of disuse musculoskeletal atrophy.
3. 学会等名 2020 Annual Meeting of American Society for Bone and Mineral Research,
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tamaki H, Yotani K, Ogita F, Hayao K, Nakagawa K, Tamakoshi K, Takahashi H, Kirimoto H, Onishi H, Yamamoto N, Kasuga N,
2. 発表標題 Effects of repeated bouts of eccentric muscle contractions on trabecular bone volume and microarchitecture in the tibial metaphysis.
3. 学会等名 Journal of Physical Fitness and Sports Medicine,
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田巻弘之, 與谷謙吾, 早尾啓志, 荻田 太,
2. 発表標題 電気刺激誘発性筋収縮時のラット脛骨のひずみ特性.
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会,
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田巻弘之, 與谷謙吾, 荻田 太,
2. 発表標題 電気刺激誘発性筋収縮時の収縮様式の違いによるラット脛骨のひずみ特性.
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会,
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 春日規克, 田巻弘之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 フリースペース	5. 総ページ数 277
3. 書名 運動生理学の基礎と発展3訂版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-



6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	與谷 謙吾  (Yotani Kengo)  (10581142)	鹿屋体育大学・スポーツ生命科学系・准教授    (17702)	
研究分担者	山本 智章  (Yamamoto Noriaki)  (30445902)	新潟医療福祉大学・その他部局等・ロコモティブ症候群予防 研究センター副センター長    (33111)	
研究分担者	桐本 光  (Kirimoto Hikari)  (40406260)	広島大学・医系科学研究科(保)・教授    (15401)	
研究分担者	石道 峰典  (Ishido Minenori)  (80737536)	大阪工業大学・工学部・講師    (34406)	
研究分担者	大西 秀明  (Onishi Hideaki)  (90339953)	新潟医療福祉大学・リハビリテーション学部・教授    (33111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関