

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02981

研究課題名(和文)骨誘導性セラミックス骨補填材の開発

研究課題名(英文)A study on bioactive ceramic biomaterials

研究代表者

鈴木 治 (Suzuki, Osamu)

東北大学・歯学研究科・教授

研究者番号：60374948

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：リン酸カルシウム系の骨補填材が高活性を示すための条件を検討し、1)リン酸八カルシウム(OCP)が複合化された未分化間葉系細胞は、細胞塊形成の環境下において、OCPの生体内での骨形成と関連した骨芽細胞分化促進を示すこと、2)OCPとgelatinとの複合体では、OCPが血管新生にポジティブに作用し、骨形成に先立って血管新生を促進すること、また、3)骨粗鬆症病態の環境下(ラットモデル)では用量の異なるOCPとgelatinとの複合体の骨形成は、血清の過飽和環境に影響を受ける骨形成様式となることを明らかにした。材料周囲の化学環境はOCP材料の骨形成に影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疾病等で失われた骨の修復に人工材料による補填が行われてきた。リン酸カルシウム骨補填材は生理的な環境のうち、特に化学的な環境に影響を受けやすい材料である。OCPは、生体環境下で化学的な変化を伴うことから、その骨伝導性が機能するための環境条件の理解が重要となる。本研究では、骨芽細胞分化、血管新生、また骨粗鬆症下の血清組成に着目して、OCPの骨形成能を明らかにし、無機イオン濃度で規定される化学的環境がOCP材料の生体材料学的特性に影響を及ぼす可能性があることを示した。本研究の結果は、化学的な環境要因を考慮した高活性な骨補填材の設計と開発への応用を拓くものである。

研究成果の概要(英文)：The present study was designed to investigate about how physicochemical environments affect the activity of calcium phosphate materials. Calcium phosphate materials, including octacalcium phosphate (OCP), cultured with mesenchymal stem cells in the spheroid form, enhanced its osteoblastic differentiation in vitro. The cellular activity was well correlated with mouse calvaria defect bone formation by the materials. OCP/gelatin composite was capable of enhancing angiogenesis followed by bone formation in rat calvaria defect. The dose of OCP in the composite affected bone formation ability in rat model under osteoporotic serum environment. The chemical environment surrounding the bone substitute materials may affect the activity of calcium phosphate materials in particular OCP.

研究分野：生体材料工学

キーワード：生体活性 リン酸カルシウム 骨芽細胞 骨補填材

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

疾病や事故などで失われた骨欠損を修復するため様々な組織再生技術が研究されている。例えば、未分化間葉系幹細胞を移植する細胞治療法、成長因子が一定期間滞在可能な担体材料と組み合わせた薬物送達法、また、骨への親和性が高く、骨と直接に結合できる骨伝導性を示す人工合成あるいは生物由来の生体材料を補填材として用いる方法などがある。このうち、人工合成の生体材料は一定の品質が担保でき、安定供給が見込めることから様々な材質の補填材料が開発されてきた。特に骨の無機成分と類似の組成を持つリン酸カルシウム材料は高い骨伝導性を示す生体材料として口腔外科や整形外科など、骨補填を必要とする分野で広く臨床応用されている。たとえば、ハイドロキシアパタイト (HA) や  $\beta$ -リン酸三カルシウム ( $\beta$ -TCP) のセラミックス材料などが相当する。一方、より生体活性が高く、骨形成が促進される材料への臨床的要望は多くあり、高骨伝導性、あるいは骨形成がその場で自発的に生じるような骨誘導性の材料ができれば、骨の組織再生治療への貢献が見込める。研究代表者らは、結晶相の安定的な合成が難しいとされてきたリン酸八カルシウム (OCP) をベンチスケールで合成できるようにし、OCP が生体内へ置かれると Ca 欠損型の HA へ相転移する際に骨芽細胞を活性化して同所性の骨形成を促進すること、HA など他のリン酸カルシウムよりも高い骨伝導性を示すことを報告した (鈴木治ほか, 特 3115642; Suzuki O et al. Tohoku J Exp Med 164:37, 1991; Biomaterials 27:2671, 2006)。しかしながら、臨床の場ではより高活性な生体材料、また、活性が発現する生体材料学的条件の解明が求められていた。

### 2. 研究の目的

骨欠損における新生骨の形成が促進される生体活性の高い骨補填材料を開発することを目的として、1) *in vitro* での細胞親和性と *in vivo* での骨形成との関連性の解明、2) 生体由来有機成分との複合化が骨形成だけでなくその関連組織の再生に有効かどうかを検証、3) 生体由来有機成分との複合条件が病態モデル動物の骨形成にどのように影響を及ぼすかの検証を行った。そのため、1) OCP 材料および他のリン酸カルシウム材料と未分化間葉系幹細胞 (MSC) との複合体の既開発培養デバイスによる調製とその細胞生物学的、生体材料学的評価、2) 有機成分 gelatin と OCP の複合体 (OCP/gelatin) 作製と、ラット頭蓋冠臨界径骨欠損埋入による骨再生および血管新生の評価、3) 骨粗鬆症モデルラットの脛骨規格化骨欠損を用い、有機成分 gelatin と OCP の複合体における混合条件が、欠損埋入による骨再生にどのように影響があるかについて評価した。これらの検討を通して、骨の修復における生体材料学観点で材料の活性について考察し、骨補填材の高活性化条件を調べた。

### 3. 研究の方法

#### (1) OCP および OCP 複合体材料の調製

カルシウム (Ca) およびリン酸の濃度、pH、温度をもとに、HA および OCP が過飽和となる溶液条件を研究室所有のシミュレーターを用いて計算して設定し、X 線回折の評価で単一相を有する OCP 結晶を合成した (鈴木治ほか, 特 3115642; Suzuki O et al. Tohoku J Exp Med 164:37, 1991)。リン酸カルシウム材料と MSC との複合体の評価研究のため、OCP 以外のリン酸カルシウムとして、市販の医療用焼結 HA および  $\beta$ -TCP のセラミックス材料を対照として用意した。いずれも整粒して顆粒状の材料として実験に供した。OCP 複合体の調製は、所定量の OCP 顆粒を gelatin 水溶液と混合してゲル化し、凍結乾燥後に熱架橋して成型し、多孔質複合体を得た (Saito K et al. RSC Adv 6:64165, 2016)。

#### (2) MSC 複合体の調製用培養デバイスの作製

細胞塊作製のため、ポリジメチルシロキサン (PDMS) を原料として、CO<sub>2</sub> レーザーでアクリル板を加工・作製した鋳型にて、ディンプルを有する PDMS 製細胞塊大量作製用培養デバイス (酸素透過性培養デバイス) を作製した (Anada T et al. Regen Therapy 3: 58, 2016; Biomaterials 33: 8430, 2012)。

#### (3) リン酸カルシウム材料 / MSC 複合体の調製および評価

マウス間葉系幹細胞株 D1 細胞あるいは C3H10T1/2 細胞と、HA、 $\beta$ -TCP および OCP の各材料の顆粒 (53  $\mu$ m 以下) とのハイブリッドスフェロイドを製作し、PDMS 製培養デバイスにて 7 日から 21 日間、骨分化培地にて培養を行った。アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性とリアルタイム PCR 法による骨分化マーカー (オステオポンチン) の測定を行い、それぞれのリン酸カルシウム材料の骨芽細胞分化に及ぼす影響を調べた。また、これら *in vitro* 評価と *in vivo* によるリン酸カルシウム材料の骨形成能との関連性を調べるために、10 週齢雄 ICR マウス頭蓋冠規格化骨欠損へのリン酸カルシウム材料の埋入試験にて 10 週間まで骨形成量を定量的に調べ、*in vitro* における ALP 活性との相関性を調べた (Sato T et al. Acta Biomater 88:477, 2019)。埋入試験は研究機関の承認を得て行った。

#### (4) OCP/gelatin 複合体による骨再生および血管新生の評価

湿式合成から得た OCP 顆粒 (300 - 500  $\mu\text{m}$ ) を 44wt% 含有した OCP/gelatin 複合体を調製し、厚さ 1 mm、直径 9 mm のディスク状に成形した。OCP/gelatin ディスクを 12 週齢 Wistar ラット頭蓋冠に形成した自己修復できないサイズの臨界径骨欠損 (9 mm 径) に埋入した。埋入後 2 週および 4 週で X 線造影剤を灌流した後、ラット頭部の血管を可視化した。次に、脱灰前後の回収組織の  $\mu\text{CT}$  撮影を行い、三次元画像解析によって新生血管の体積を定量した。また、脱灰標本から組織切片を作製し、対比染色による血管数、およびヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色による再生骨の割合を定量した。さらに、*in vitro* でトランスウェルを用いて、OCP 顆粒共存下でヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を培養し、HUVEC の管腔構造を光学顕微鏡で観察して架橋数を定量評価した (Kurobane T et al. *Acta Biomater* 88:514, 2019)。埋入試験は研究機関の承認を得て行った。

#### (5) OCP/gelatin 複合体と複合化条件による病態モデル動物における骨再生の評価

骨粗鬆症病態下における骨補填材の骨形成と材料の活性条件を検討するため、実験的骨粗鬆症モデルである卵巣摘出 (OVX) ラットによる骨形成および *in vitro* における化学的安定性の試験を行った。湿式合成から得た OCP 顆粒 (300 - 500  $\mu\text{m}$ ) を 17wt% および 44wt% の OCP を含有した OCP/gelatin 複合体を調製した。OCP 含有量が与える化学的な影響を調べるため、擬似体液 (Simulated Body Fluid (SBF), Kokubo T et al. *Biomaterials* 27:2907, 2006) を基本として Ca およびリン酸のイオン濃度が異なるように調製した OVX-SBF に OCP/gelatin を浸漬させ、上清のイオン活動度積および溶解度定数から過飽和度を決定した。また、12 週齢 Sprague-Dawley (SD) 雌ラットに卵巣摘出手術を行い、12 週後に脛骨内側骨孔 (直径 3 mm、深さ 3 mm) を作製し、OCP/gelatin 複合体を 12 週まで埋入した。 $\mu\text{CT}$  撮影、脱灰標本による HE 染色、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 染色、オステオカルシン免疫染色を行い、骨形成の評価を行った。埋入試験は研究機関の承認を得て行った。

### 4. 研究成果

#### (1) OCP/MSC, HA/MSC, $\beta$ -TCP/MSC 複合体の性質

それぞれの複合体は、材料の種類によらず、培養 7 日間までに比較的均一な細胞塊を形成し、リン酸カルシウム材料と MSC の複合体が作製できた。光学顕微鏡写真を用いた画像解析から得られた細胞塊径は、MSC のみ、OCP/MSC, HA/MSC,  $\beta$ -TCP/MSC の複合体でそれぞれ、178  $\mu\text{m}$ 、274  $\mu\text{m}$ 、257  $\mu\text{m}$  および 234  $\mu\text{m}$  であった (Sato T et al. *Acta Biomater* 88:477, 2019)。

#### (2) OCP/gelatin 複合体の性質

骨粗鬆症モデルラットの脛骨規格化骨欠損埋入向け OCP/gelatin は次に示す材料学的性質を有していた。1) OCP 組成を想定した化学分析に基づく OCP 含有量 (wt%)、2) 走査型電子顕微鏡観察 (SEM) 像の画像解析に基づく気孔径 ( $\mu\text{m}$ )、3) ピクノメーターを用いた評価による気孔率 (%) は、17wt% OCP/gelatin および 44wt% OCP/gelatin ではそれぞれ、1) 20.3% および 46.4%、2) 182.4  $\mu\text{m}$  および 190.7  $\mu\text{m}$ 、3) 90.3% および 92.2% であった。OCP 顆粒は gelatin 基質材料中に比較的良好に分散して存在しており、気孔間にまたがって存在していた (Baba K et al. *ACS Appl Bio Mater* 3:1444, 2020)。

#### (3) リン酸カルシウム/MSC 複合体の細胞活性化とリン酸カルシウムの骨形成能の関連性

骨形成の定量評価から、マウス頭蓋冠規格化骨欠損部の新生骨量は、HA および  $\beta$ -TCP と比較して OCP 埋入群で最も多かった。OCP と HA 間で有意差が認められた。細胞塊の複合体作製の培養では、C3H10T1/2 細胞および D1 細胞共に骨芽細胞関連遺伝子の 1 つであるオステオポンチンの発現量が OCP で最も高かった。D1 細胞では 7 日間における比較で OCP と  $\beta$ -TCP、OCP と HA との間に有意差が認められた。D1 細胞における ALP 活性は OCP との複合体で最も高い傾向があり、HA との間で有意差があった。新生骨量と ALP 活性、新生骨量とオステオポンチン発現量の間には、いずれも正の相関性がみられ、C3H10T1/2 細胞ではオステオポンチン、D1 細胞では ALP 活性との相関係数がおよそ 0.9 となった。以上の結果から、MSC とリン酸カルシウム系材料による細胞塊の骨芽細胞分化を調べることで、*in vivo* のリン酸カルシウム系材料の骨再生能を *in vitro* で短期間で簡易に評価できる可能性が示唆された (Sato T et al. *Acta Biomater* 88:477, 2019)。

#### (4) OCP/gelatin の骨再生と血管新生の特性

ラット頭蓋冠を用いた定量評価では、OCP/gelatin ディスク埋入群では、対照とした未埋入群および gelatin 単体ディスク埋入群と比較して、埋入 2 週で新生血管量と再生骨量が有意に増加した。埋入 4 週では埋入 2 週よりも新生血管量が有意に減少した。このことから、骨形成に先立ち、血管の新生が促進されることが示唆された。HUVEC の培養による *in vitro* の実験では、OCP 用量が HUVEC の架橋構造形成に影響を与え、至適な OCP 用量条件が存在することが明らかとなった。これら *in vivo* と *in vitro* における検討により、OCP による優れた骨再生は、早期の血管新生の促進により誘導される可能性が示唆された (Kurobane T et al. *Acta*

( 5 ) OCP/gelatin の骨粗鬆症病態下における骨再生と材料調製条件の関連性

SBF および OVX-SBF への浸漬実験から、OVX-SBF 中で、OCP/gelatin における OCP 含有量 17wt% および 44wt% で OCP に関する上清の過飽和度に違いが見られた。44wt% では SBF 中と比較し、OVX-SBF 中でより過飽和にとどまる傾向があり、ラット骨粗鬆症病態下では骨補填材としての OCP 材料の活性の現れ方に違いが生じることが示唆された。μCT 像では、OCP/gelatin 複合体周囲の不透過性は増加していた。新生骨面積の評価では OCP 含有量によらず埋入 12 週までに皮質骨領域、髄腔内領域とも増加が認められた。埋入後 12 週の 17wt% 群で皮質骨領域の新生骨面積が大きかった。破骨細胞あるいは材料表面の破骨細胞様細胞と一致する TRAP 陽性細胞は、17wt% 群で埋入後 4 週から 8 週で皮質骨領域、髄腔内領域ともに減少した。骨芽細胞に一致するオステオカルシン陽性細胞は、17wt% 群、44wt% 群ともに皮質骨領域で埋入後 4 週から 8 週で増加傾向であった。OCP は生理的環境下で HA に転換する過程で骨芽細胞の分化を促進し、骨形成を増大させることが明らかになっている (Suzuki O et al. Biomaterials 27:2671, 2006)。ラットにおける閉経後骨粗鬆症環境下では、OCP 含有量が下がることでより HA に転換し易い化学環境となり OCP の含有量の低下によって皮質骨領域での新生骨面積が増加したと考えられる (Baba K et al. ACS Appl Bio Mater 3:1444, 2020)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 K Baba, Y Shiwaku, R Hamai, Y Mori, T Anada, K Tsuchiya, I Oizumi, N Miyatake, E Ito, O Suzuki	4. 巻 3
2. 論文標題 Chemical stability-sensitive osteoconductive performance of octacalcium phosphate bone substitute in an ovariectomized rat tibia defect	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Appl Bio Mater	6. 最初と最後の頁 1444 ~ 1458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsabm.9b01091	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 K Tsuchiya, R Hamai, S Sakai, O Suzuki	4. 巻 39
2. 論文標題 Comparative analysis of bovine serum albumin adsorption onto octacalcium phosphate crystals prepared using different methods	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dent Mater J	6. 最初と最後の頁 883 ~ 891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2019-250	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 O Suzuki, Y Shiwaku, R Hamai	4. 巻 39
2. 論文標題 Octacalcium phosphate bone substitute materials: Comparison between properties of biomaterials and other calcium phosphate materials	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dent Mater J	6. 最初と最後の頁 187 ~ 199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2020-001	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 T Kurobane, Y Shiwaku, T Anada, R Hamai, K Tsuchiya, K Baba, M Iikubo, T Takahashi, O Suzuki	4. 巻 88
2. 論文標題 Angiogenesis involvement by octacalcium phosphate-gelatin composite-driven bone regeneration in rat calvaria critical-sized defect	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Biomater	6. 最初と最後の頁 514-526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2019.02.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T Sato, T Anada, R Hamai, Y Shiwaku, K Tsuchiya, S Sakai, K Baba, K Sasaki, O Suzuki	4. 巻 88
2. 論文標題 Culture of hybrid spheroids composed of calcium phosphate materials and mesencymal stem cells on an oxygen-permeable culture device to predict in vivo bone forming capability	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Biomater	6. 最初と最後の頁 477-490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2019.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y Sai, Y Shiwaku, T Anada, K Tsuchiya, T Takahashi, O Suzuki	4. 巻 69
2. 論文標題 Capacity of octacalcium phosphate to promote osteoblastic differentiation toward osteocytes in vitro	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Biomater	6. 最初と最後の頁 362-371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2018.01.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 R Iwama, T Anada, Y Shiwaku, K Tsuchiya, T Takahashi, O Suzuki	4. 巻 106
2. 論文標題 Osteogenic cellular activity around onlaid octacalcium phosphate-gelatin composite onto rat calvaria	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Biomed Mater Res A	6. 最初と最後の頁 1322-1333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.a.36335	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 9件/うち国際学会 6件）

1. 発表者名 鈴木 治
2. 発表標題 リン酸八カルシウム (OCP) 骨補填材の開発：材料が誘導する細胞の活性化と骨再生
3. 学会等名 第33回代用臓器・再生医学研究会総会/日本バイオマテリアル学会北海道ブロック第4回研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Suzuki O, Anada T, Shiwaku Y, Hamai R
2. 発表標題 Osteogenic and angiogenic capabilities of octacalcium phosphate involving ionic dissolution through its chemical property
3. 学会等名 European Society for Biomaterials (ESB) 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki O, Sato T, Anada T, Hamai R, Shiwaku Y, Tsuchiya K, Sasaki K
2. 発表標題 Osteogenic analysis of octacalcium phosphate in a hybrid spheroid 3D culture method
3. 学会等名 Bioceramics 31 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki O, Anada T, Shiwaku Y, Hamai R.
2. 発表標題 Effect of octacalcium phosphate-based materials on activating osteoblast differentiation lineages and bone regeneration
3. 学会等名 ABC 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki O, Shiwaku Y, Hamai R
2. 発表標題 Biodegradable characteristics of octacalcium phosphate-based bone substitute materials involving osteoclastic cellular activity
3. 学会等名 MRM 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 治
2. 発表標題 リン酸八カルシウムの細胞活性機序解明と骨補填材開発
3. 学会等名 東北大学金属材料研究所共同研究ワークショップ・日本バイオマテリアル学会東北ブロック講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki O, Anada T, Shiwaku Y
2. 発表標題 Chemical behavior and bioactive property of octacalcium phosphate-based bone substitute materials
3. 学会等名 Finland-Japan Workshop（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木治
2. 発表標題 リン酸オクタカルシウムはどのようにして骨を再生させるか
3. 学会等名 第22回 日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会 ランチョンセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Suzuki O	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 374
3. 書名 Evolution of octacalcium phosphate biomaterials. In Chapter 1, Octacalcium Phosphate Biomaterials, pp.1-15. Edits: O Suzuki, G Insley	



1. 著者名 川井忠, 松井桂子, 鈴木治, 高橋哲, 鎌倉慎治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 219 (担当7頁)
3. 書名 歯界展望 リン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野HP <a href="http://www.cfe.dent.tohoku.ac.jp/">http://www.cfe.dent.tohoku.ac.jp/</a>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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	濱井 瞭 (Hamai Ryo)  (00824004)	東北大学・歯学研究科・助教  (11301)	
研究分担者	穴田 貴久 (Anada Takahisa)  (30398466)	九州大学・先導物質化学研究所・准教授  (17102)	
研究分担者	川井 忠 (Kawai Tadashi)  (50547263)	岩手医科大学・歯学部・講師  (31201)	

6. 研究組織（つづき）

	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	井樋 栄二  (Itoi Eiji)  (80193465)	東北大学・医学系研究科・教授    (11301)	
研究分担者	溝口 利英  (Mizoguchi Hidetoshi)  (90329475)	東京歯科大学・歯学部・准教授    (32650)	

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