

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06319

研究課題名(和文) 抗微生物、細胞障害、細胞膜透過 - ヒストンが配列内に秘めた多様な作用とその活用

研究課題名(英文) Multiple roles of histones: identification of responsible regions for the activities

研究代表者

岩室 祥一 (IWAMURO, Shawichi)

東邦大学・理学部・教授

研究者番号：70221794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒストンは抗菌作用及び細胞障害性を有する。本研究ではヒストンH3分子が抗菌領域と細胞障害性領域をそれぞれ別個に有し、抗菌領域はエンドトキシンとの結合能並びに炎症性サイトカインの発現促進能を有することを明らかにした。また、ヒストンは生体への投与により全身性炎症反応症候群(SIRS)を引き起こすことから、カイコならびにスジエビにヒストンを注射した。その結果、いずれの動物種においてもSIRS様の症状を誘発でき、かつその作用はDNAの共投与により抑制できることを明らかにした。さらに、サドガエル、ヤクシマタゴガエル、オオハナサキガエルの皮膚より、抗菌作用を有する新規のペプチドを複数種類得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細菌感染による敗血症はSIRSの原因となるが、SIRSに至る反応の過程にはヒストンが深く関与している。細胞外ヒストンは直接抗菌作用を示すことに加え、細菌感染において好中球細胞外トラップの構成要素として体内でも抗菌的に作用する一方で、生体へのヒストンの投与は敗血症に見られるSIRSの症状を再現できる。本研究は、ヒストンの生体防御における二面性とその分子内の異なる領域に由来することを明らかにしたこと、高感度で簡便なエンドトキシンと抗菌物質の結合検出系を開発したことに学術的意義があり、その成果がSIRSの治療の有効な手立ての開発につながるヒントを十分に包含していることに社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Extracellular histones are known to possess both antimicrobial and cytotoxic activities. In this study, we found that antimicrobial and cytotoxic activities were derived from different regions of histone H3 molecule and that the antimicrobial region has the ability to bind bacterial toxins (lipopolysaccharide and lipoteichoic acid) and to promote inflammatory cytokine expression. Histones also induce a systemic inflammatory response syndrome (SIRS) in mammals. We found that injections of histones into the invertebrates such as the silkworm *Bombyx mori* and the freshwater prawn *Palaemon paucidens* induced SIRS-like symptoms in both species, and that these effects could be suppressed by coadministration of DNA. In addition, we obtained several novel antimicrobial peptides from the skin of *Glandirana susurra*, *Rana tagoi yakushimensis*, and *Odorrana supranarina* using cDNA cloning techniques.

研究分野：分子生理学

キーワード：ヒストン 抗菌作用 細胞障害性 全身性炎症反応症候群 サドガエル ヤクシマタゴガエル オオハナサキガエル 抗菌ペプチド

1. 研究開始当初の背景

核外ヒストンの多様な作用の大半は「生体防御」に集約できるが、「抗菌性」と「細胞障害性」という生体防御において相反する二つの作用も示す。抗菌性の第一報は 80 年前[参考文献 1]に遡れるものの、5 種類のサブタイプの最後の一つの活性が報告されたのは 2011 年である[参考文献 2]。その間、好中球細胞外トラップ(NETs)の構成要素として生体防御に貢献すること[参考文献 3]が報じられて以来、ヒストンの抗菌性に対する注目度は一気に高まったが、個々のヒストンの抗菌メカニズム等に関する研究はあまり大きな進展はあまりなかった。一方、細胞障害性については、全長ヒストンの血中への投与が敗血症を誘発し敗血症の動物では血中ヒストン濃度が増加するという論文[参考文献 4]を皮切りに、多くの報告なされるようになった。また、生体防御との関係は不明であるが、高濃度では毒性のあるヒストンが低濃度だと真核細胞の細胞膜を透過する作用もある[参考文献 5]。これらを背景に、ヒストンの多様な活性は一次構造のどの領域に由来するのか、またその領域は各作用で異なるのか、という疑問が研究開始当初の背景にあり、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

(1)ヒストン H3 における抗微生物活性領域配列と細胞障害作用領域配列の探索

ヒストン H3 はともに塩基性アミノ酸として Lys よりも Arg を多く含有し、細菌細胞膜破壊型の抗菌作用と細胞膜破壊を介した細胞障害作用を示す。ヒストン H3 において、この 2 つの作用が分子内の同じ領域に由来するのか、それともそれぞれ異なる領域に由来するのかを、明らかにする。

(2)抗菌タンパク質・抗菌ペプチドのエンドトキシン結合能の検出系の開発

正に帯電している抗菌ペプチドは、負に帯電している細菌細胞の最外層に存在するリポ多糖(LPS)やリポテイコ酸(LTA)と静電的に引き合う。LPS や LTA はエンドトキシンとして病原性を有することも踏まえ、抗菌ペプチドやヒストンのような抗菌タンパク質とエンドトキシンとの結合の有無や程度を高感度で簡便に検出できる系を開発する。

(3)ヒストン H3 における炎症性サイトカイン発現促進の検証

ヒストン H3 の抗微生物活性および細胞毒性がその分子内配列のどの領域に由来するのかを検証し、またその上位のシグナル伝達経路を特定する。

(4)節足動物を用いたヒストンによる SIRS の誘導系の開発とその緩和

脊椎動物を用いてヒストンにより発症する SIRS の研究を行うには、大量のヒストンを必要とするとともに、専用の動物飼育施設・スペース・設備が必要となる。さらに実験上の様々な規制も存在する。これらを克服するため、小型で逃亡の恐れがなく、小スペースで飼育が可能であり、細菌による感染症の研究報告もある節足動物(カイコ、スジエビ)を用いて、ヒストンによる SIRS の誘導系を開発するとともに、その緩和を可能とする物質を探索する。

(5)両生類皮膚抗菌ペプチドの探索

本研究の原点は、両生類の皮膚からの抗菌ペプチドの単離の過程でヒストン H2B を抗菌物質として得たことである。両生類抗菌ペプチドを用いた研究は、各種作用のアッセイ系の確立などにおいて、常に本研究に先行している。本研究ではまだ抗菌ペプチドが見つからないヤクシマタゴガエルとオオハナサキガエルからその探索を行い、抗菌活性、細胞障害性、ならびに上述(2)を用いたエンドトキシン結合の検証を行う。

3. 研究の方法

(1)ヒストン H3 における抗微生物活性領域配列と細胞障害作用領域配列の探索

ヒトヒストン H3 のアミノ酸配列(133 アミノ酸残基)を基に、1-34、35-68、69-103、104-133 位のアミノ酸配列に相当するフラグメントペプチドを合成した。これらペプチドを用いて微量液体希釈法による抗菌活性の測定と、MTT アッセイによる細胞障害性を検証した。抗菌活性測定の被検体には大腸菌、黄色ブドウ球菌、カンジダ菌を、MTT アッセイには HUVEC (正常ヒト臍帯静脈内皮細胞)、HAEC (ヒト動脈内皮細胞由来)、CPAE (ウシ肺動脈血管内皮細胞)、COS7 (アフリカミドリザル腎由来不死化細胞)を使用した。作用後の細胞を走査型電子顕微鏡で観察し、ペプチドの作用機序を解析した。

(2)抗菌タンパク質・抗菌ペプチドのエンドトキシン結合能の検出系の開発

抗体を用いて抗原タンパク質濃度を測定する方法である enzyme-linked immunosorbent assay

酵素抗体法の原理を基に、抗体の代わりにタンパク質（ヒストン H3 ならびにフラグメントペプチド）を固相化したマイクロプレートに、ビオチンで標識したエンドトキシン（LPS もしくは LTA）の溶液を添加し、タンパク質と結合したエンドトキシンと酵素で標識したストレプトアビジンとを結合させ、発色基質を加えたのち、マイクロプレートリーダーで吸光度を測定した。

(3) ヒストン H3 における炎症性サイトカイン発現促進の検証

マイクロプレートにマウスマクロファージ由来培養細胞（RAW264.7）を播種し、培養液にヒストン H3 ならびにフラグメントペプチドの溶液を添加し、培養した。細胞を回収して RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法により、炎症性サイトカイン（IL-6、TNF）の mRNA を定量した。

(4) 節足動物を用いたヒストンによる SIRS の誘導系の開発とその緩和

カイコならびにスジエビを購入し、生育環境に馴化させた。カイコは 5 令幼虫を、スジエビはほぼ同じ体長の個体を、それぞれ使用した。オートクレーブ処理により作製した大腸菌および黄色ブドウ球菌の死菌を適量注射し、24 時間ごとに生存個体数を計測するとともに、形態の変化の有無を観察した。次いで、種々の濃度のヒストン混合物の水溶液を注射し、24 時間ごとに同様の観察を行った。カイコならびにスジエビのそれぞれに対する致死濃度のヒストン混合物溶液に種々の濃度の DNA 溶液を共投与し、24 時間ごとに生存個体数を計測した。

(5) 両生類皮膚抗菌ペプチドの探索

合法的な方法で入手したサドガエル、ヤクシマタゴガエルおよびオオハナサキガエルから皮膚ほか種々の器官を摘出し、RNA を抽出した。これを鋳型に、アカガエル科のカエルの抗菌ペプチド前駆体タンパク質 mRNA の塩基配列に特異的な配列を有するプライマーを組み合わせた RT-PCR を行った。増幅した cDNA をアガロースゲル電気泳動で分離・精製し、サブクローニング用ベクターに組み込んで、塩基配列を決定した。得られた塩基配列からタンパク質のアミノ酸配列を予測し、BLAST 検索により新規の抗菌ペプチド様配列を選び出した。この配列に基づくペプチドを合成し、上記(1)、(2)に準じた解析を行った。

4. 研究成果

(1) ヒストン H3 における抗微生物活性領域配列と細胞障害作用領域配列の特定

ヒストン H3 を 4 領域に分割したペプチドを用いた実験により、抗菌活性を示す領域と細胞障害性を示す領域は異なっていることが明らかとなった。それぞれの活性の強度は全長ヒストン H3 には及ばず、また 4 種類のフラグメントを等量ずつ同時に投与しても、同じ濃度の全長 H3 ほどの効果が見られなかった。走査型電子顕微鏡による形態観察の結果、どちらの作用においても細胞膜破壊を伴っていた。

(2) 抗菌タンパク質・抗菌ペプチドのエンドトキシン結合能の検出系の開発

異なる濃度のヒストン H3 を固相化した実験により、ヒストンの濃度依存的に LPS および LTA との結合が検出された。この測定系を、enzyme-linked endotoxin-binding assay 法 (ELEBA 法) と命名した。この方法により、ヒストン H3 関連フラグメントのうち細胞障害性領域以外に相当する 3 種類のペプチドに LPS、LTA との結合能があることを明らかにした。

(3) ヒストン H3 における炎症性サイトカイン発現促進効果

ヒストン H3、抗菌活性領域のペプチドは TNF の mRNA 発現を促進したが、細胞障害性領域のペプチドは影響を及ぼさなかった。全長 H3 は IL-6 の mRNA 発現も促進したが、フラグメントのペプチドはいずれも影響を及ぼさなかった。

(4) 節足動物を用いたヒストンによる SIRS の誘導系の開発と DNA によるその緩和

オートクレーブ処理した大腸菌（グラム陰性菌）もしくは黄色ブドウ球菌（グラム陽性菌）を注射したカイコは、細菌感染時の即時応答の際に見られる黒化を引き起こし、致死となった。ヒストン混合物を投与したところ、濃度依存的に致死性が高まり、黒化に類似した体色変化を示した。致死濃度のヒストン混合物を DNA の溶液と共投与したところ、DNA の濃度に依存して生存率が上昇した。同様の現象がスジエビにおいても観察された。

(5) 両生類皮膚抗菌ペプチドとその作用

サドガエルから 12 種類、ヤクシマタゴガエルから 11 種類、オオハナサキガエルから 25 種類の、抗菌ペプチド前駆体様配列をコードする cDNA クローンを得た。ペプチドの配列と予測二次構造や等電点を踏まえ、新規性が高く、抗菌活性が期待できる配列をそれぞれ 3 種類ずつ選択し、ペプチドを合成した。各ペプチドについて抗菌活性の測定とエンドトキシンの結合能を検証し、サドガエル由来ペプチドについては細胞障害性の検証も行った。各動物から少なくとも 1 種類の新規抗菌ペプチドを得た。また、動物病原体に対して効果がなくとも、植物病原体に対しては増殖抑制効果を示すペプチドもあった。

[参考文献]

1. Miller et al. Antibacterial properties of protamine and histone. *Science* 96, 428-430, 1942.
2. Tagai et al. Antimicrobial properties of arginine- and lysine-rich histones and involvement of bacterial outer membrane protease T in their differential mode of actions. *Peptides* 32, 2003-2009, 2011.
3. Brinkmann et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 303, 1532-1535, 2004.
4. Xu et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat. Med.* 15, 1318-1321. 2009.
5. Augusto et al. Histones: a novel class of lipopolysaccharide-binding molecules. *Biochemistry* 42, 3929-3938, 2003.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 Ogawa D, Suzuki M, Inamura Y, Saito K, Hasunuma I, Kobayashi T, Kikuyama S, Iwamuro S. | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Antimicrobial Property and Mode of Action of the Skin Peptides of the Sado Wrinkled Frog, <i>Glandirana susurra</i> , against Animal and Plant Pathogens | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Antibiotics (Basel) | 6. 最初と最後の頁 457 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antibiotics9080457 | 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 Nakano Masaki, Hasunuma Itaru, Minagawa Atsuko, Iwamuro Shawichi, Yamamoto Kazutoshi, Kikuyama Sakae, Machida Takeo, Kobayashi Tetsuya | 4. 巻 267 |
| 2. 論文標題 Possible involvement of thyrotropin-releasing hormone receptor 3 in the release of prolactin in the metamorphosing bullfrog larvae | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology | 6. 最初と最後の頁 36～44 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygcen.2018.05.029 | 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21件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 蓮沼至、中野真樹、小林哲也、岩室祥一、山本和俊、菊山榮 |
| 2. 発表標題 ウシガエルを用いた研究から見えてきた両生類3型甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体の特性および機能 |
| 3. 学会等名 第34回下垂体研究会学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 岩室祥一、近藤綾音、稲村有里子、鈴木麻奈美、川名夏未、田中夕理、小林哲也、蓮沼至、菊山榮 |
| 2. 発表標題 細胞外ヒストンの普遍的細胞毒性 |
| 3. 学会等名 日本動物学会第90回大阪大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 佐藤玄基, 金谷美咲, 蓮沼至, 岩室祥一, 菊山榮, 小林哲也 |
| 2. 発表標題 ウズラのハーダー腺内の抗菌ペプチドmRNA発現は短鎖脂肪酸の経口摂取により上昇する |
| 3. 学会等名 日本動物学会第90回大阪大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 岩佐亜美, 大和田孝祐, 岩室祥一, 菊山榮, 蓮沼至 |
| 2. 発表標題 成体アカハライモリ大脳における神経発生 |
| 3. 学会等名 日本動物学会第90回大阪大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 佐藤玄基, 蓮沼至, 岩室祥一, 菊山榮, 小林哲也 |
| 2. 発表標題 短鎖脂肪酸はウズラの免疫器官の抗菌ペプチド発現を高める |
| 3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会大会及びシンポジウム |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 岩佐亜美, 大和田孝祐, 岩室祥一, 菊山榮, 蓮沼至 |
| 2. 発表標題 成体アカハライモリ大脳における新生神経細胞の機能 |
| 3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会大会及びシンポジウム |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 田中夕理, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 ヒストンH3分子内における抗菌活性及び細胞毒性領域の特定と作用機序の解明 |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 鈴木麻奈美, 稲村有里子, 小川大輔, 蓮沼至, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 両生類の抗菌ペプチドは植物の病原体にも効果がある |
| 3. 学会等名 日本動物学会関東支部第71回大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 近藤綾音, 川名夏未, 斎藤海斗, 田中夕理, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 微生物、培養細胞、及びカイコ幼虫を用いたヒストン混合物の細胞障害性の検証 |
| 3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 田中夕理, 小谷野泉, 山中菜々子, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 ヒストンH3分子の抗菌活性と細胞毒性活性は異なる領域に由来する |
| 3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中野真樹, 内山愛里, 小林浩志, 藤澤静香, 望月拓也, 小林哲也, 菊山榮, 蓮沼至, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 両生類脳における生体防御ペプチドの機能探索 |
| 3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム仙台大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 金谷実咲, 伊藤真知, 蓮沼至, 岩室祥一, 菊山榮, 小林哲也 |
| 2. 発表標題 Cathelicidin-B1のウズラのファブリキウス嚢における発現部位の特定, ならびに生理機能の探索 |
| 3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム仙台大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 小川大輔, 蓮沼至, 小林哲也, 菊山榮, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 サドガエル生体防御ペプチドの抗菌ならびに細胞毒性作用機構の解析 |
| 3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム仙台大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 金谷実咲, 伊藤真知, 蓮沼至, 岩室祥一, 菊山榮, 小林哲也 |
| 2. 発表標題 ウズラのファブリキウス嚢におけるCathelicidin-B1 mRNA発現細胞の同定と合成Cathelicidin-B1ペプチドの生理機能 |
| 3. 学会等名 日本動物学会第89回札幌大会(震災により開催中止, バーチャル発表) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 田中夕理, 齋藤海斗, 小谷野泉, 中野真樹, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 ヒストンH3分子における抗菌性及び細胞毒性を發揮する領域の特定とその作用機序. |
| 3. 学会等名 日本動物学会第89回札幌大会 (震災により開催中止, パーチャル発表) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 小川大輔, 蓮沼至, 小林哲也, 菊山榮, 岩室祥一 |
| 2. 発表標題 サドガエル生体防御ペプチドの抗菌ならびに細胞毒性作用機構の解析 |
| 3. 学会等名 日本動物学会第89回札幌大会 (震災により開催中止, パーチャル発表) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 岩室祥一, 菊山榮, 小林哲也 |
| 2. 発表標題 遺伝子発現解析を介して生体防御ペプチドの分泌制御機構を鳥取にて考える |
| 3. 学会等名 第92回日本動物学会米子大会, シンポジウム「第5回ペプチド・ホルモン研究会～多様な分泌制御による生体防御システム～」(招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 岩室祥一, 小川大輔, 鈴木麻奈美, 稲村有里, 齋藤海斗, 蓮沼至, 小林哲也, 菊山榮 |
| 2. 発表標題 サドガエル皮膚に由来する生体防御ペプチドは動植物双方の病原菌に作用する |
| 3. 学会等名 第92回日本動物学会米子大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 田中達也、蓮沼至、小林哲也、菊山榮、岩室祥一 |
| 2. 発表標題 オオハナサキガエル (<i>Odorrana supranarina</i>) 皮膚に由来する生体防御ペプチドの機能解析 |
| 3. 学会等名 第92回日本動物学会米子大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 花岡尚輝、井村基、岩佐亜美、大和田孝祐、岩室祥一、豊田ふみよ、菊山榮、蓮沼至 |
| 2. 発表標題 成体アカハライモリ間脳視索前野部の神経新生 |
| 3. 学会等名 第92回日本動物学会米子大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 谷川恒、金谷美咲、中尾暢宏、岩室祥一、菊山榮、小林哲也 |
| 2. 発表標題 ウズラのファブリキウス嚢における抗菌ペプチドmRNA発現におよぼす日照時間の影響 |
| 3. 学会等名 第45回鳥類内分泌研究会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|-----------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 公益社団法人日本動物学会（編）、岩室祥一ほか著 | 4. 発行年 2018年 |
| 2. 出版社 丸善出版 | 5. 総ページ数 808 |
| 3. 書名 動物学の百科事典 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

その壁を突き抜ける！ - 細胞膜透過ペプチドの話 -
<https://www.toho-u.ac.jp/sci/bio/column/0819.html>
 東邦大学理学部生体調節学研究室ホームページ
<https://www.lab.toho-u.ac.jp/sci/bio/regl/>

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 | 小林 哲也 (KOBAYASHI Tetsuya) (00195794) | 埼玉大学・理工学研究科・教授 (12401) | |
| 研究分担者 | 菊山 榮 (KIKUYAMA Sakae) (20063638) | 早稲田大学・教育・総合科学学術院・名誉教授 (32689) | |
| 研究分担者 | 蓮沼 至 (HASUNUMA Itaru) (40434261) | 東邦大学・理学部・准教授 (32661) | |
| 研究分担者 | 中野 真樹 (NAKANO Masaki) (20646195) | 信州大学・医学部・研究員 (13601) | |

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 |
|---------|---------|