

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H01610

研究課題名(和文)京野菜に特異的に含まれる発がん抑制成分のヒトへの適用を目的とした食品機能性研究

研究課題名(英文) Food functional research for human application of cancer inhibitory ingredients contained in heirloom vegetables in Kyoto

研究代表者

中村 考志 (NAKAMURA, YASUSHI)

京都府立大学・文学部・教授

研究者番号：90285247

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：京野菜の桂ウリに含まれる香りの成分のひとつがMTAEです。桂ウリを食べるとMTAEは体内でおこる化学変化によりがん抑制効果を示すMTAになります。桂ウリを食べたときに得られる発がん抑制効果とその機能を解析することを目的とするために、MTAに焦点をあてて動物を使った発がん抑制試験とヒト大腸がん細胞を使った分子生物学的試験を実施しました。本研究から、MTAの発がん抑制効果は発がん様式や臓器により異なることと、発がんに関わる複数の遺伝子の発現をMTAが抑制することで効果を示すことを明らかにすることができました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超長寿社会となった国で直面している世界的な課題であるがんについて、本研究を実施することで、日本の伝統野菜のひとつである京野菜の桂ウリに含まれる香りの成分がもつ発がん抑制の効果としくみを明らかにする手がかりを得ました。将来、本研究の成果を発展させれば、超長寿社会の国において健康寿命を延伸する和食材のひとつである桂ウリを活用したり、発がん抑制のしくみを利用した新たな薬品開発の指標に活用したりする応用が期待できます。

研究成果の概要(英文)：MTAE, a fragrant component of Katsura-uri (heirloom vegetables in Kyoto), undergoes a chemical change in our body and is converted into MTA, which exhibits cancer chemopreventive effect. We focused on MTA and performed carcinogenesis inhibition test using animals and molecular biological test using human colon cancer cells. From this study, we obtained data suggesting that the cancer chemopreventive effect of MTA differs depending on the mode of carcinogenesis and organs, and that it suppresses the expression of multiple genes involved in carcinogenesis.

研究分野：食品科学

キーワード：食品機能性 京野菜 桂ウリ 含硫化合物 乳がん 大腸がん

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

桂ウリは漬物材料が需要のほとんどであったことにより、漬物需要の低下とともに、栽培が減少し続け、栽培終焉が危惧される京野菜である。本研究計画を立てるにあたり、ヒトが桂ウリを食べたときに胃内で生成する MTA の発がん抑制効果を作用機構とともに明らかにし、桂ウリの新たな需要創出にも活用すれば、健康増進への寄与だけでなく、栽培が終焉する和食材を保護することによる和食文化の継承に寄与できると考えた。

### 2. 研究の目的

- (1) MTA がヒト大腸がん細胞に及ぼす分化誘導作用の機構解明
- (2) MTA を哺乳動物が摂取したときに得られる発がん抑制効果の検討
- (3) MTA の前駆体である MTAE の桂ウリにおける含有量の定量

桂ウリが完熟時にのみ生成する 6 種類の香気成分のうち 3-メチルチオ酢酸エチル (MTAE) はヒト大腸がん細胞の分化誘導物質であるが、MTAE を哺乳動物が摂取すると、胃内でメチルチオ酢酸 (MTA) に変換され、MTA は MTAE の 1/6 の低容量で同等の分化誘導作用を示す。このため人が桂ウリを食べたときに得られる食品機能性の活性本体のひとつは MTA であると考え、MTA の発がん抑制効果について研究し、桂ウリの食品機能性の基礎データを構築することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) MTA がヒト大腸がん細胞に及ぼす分化誘導作用の機構解明

MTA による分化誘導作用の形態的分化マーカーによる検証

96 ウェルプレートに  $1 \times 10^5$  個の RCM-1 細胞を播種して 24 時間培養後に試料を添加した。試料添加後、倒立顕微鏡下で 96 時間まで断続的に形成されるドームを観察し、ドーム数を計数した。また、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性は、LabAssay ALP キットを使用して測定した。

MTA による分化誘導作用の生化学的分化マーカーによる検証

試薬処理後の RCM-1 細胞から得たタンパク質抽出液をイムノプロットングに供した。一次抗体：anti-cleaved poly (ADP-ribose) polymerase (PARP; 1:1,000, #5625, Cell Signaling Technology), anti-dipeptidyl peptidase 4 (DPP4; 1:1000, #67138, Cell Signaling Technology), anti-Krüppel-like factor 4 (KLF4; 1:500, #12173, Cell Signaling Technology), anti-villin (1:500, 66096-1-Ig, Proteintech), anti- $\beta$ -actin (1:10000, 66009-1-Ig, Proteintech)。HRP 標識二次抗体：ヤギ由来抗ウサギ IgG (1:3000, #7074, Cell Signaling Technology), ヒツジ由来抗マウス IgG (1:5000, NA931, GE)。タンパク質バンドは化学発光 CCD イメージングシステムで検出した。

試薬処理後の RCM-1 細胞から得たタンパク質抽出液をイムノプロットングに供した。一次抗体：anti-cleaved poly (ADP-ribose) polymerase (PARP; 1:1,000, #5625, Cell Signaling Technology), anti-dipeptidyl peptidase 4 (DPP4; 1:1000, #67138, Cell Signaling Technology), anti-Krüppel-like factor 4 (KLF4; 1:500, #12173, Cell Signaling Technology), anti-villin (1:500, 66096-1-Ig, Proteintech), anti- $\beta$ -actin (1:10000, 66009-1-Ig, Proteintech)。HRP 標識二次抗体：ヤギ由来抗ウサギ IgG (1:3000, #7074, Cell Signaling Technology), ヒツジ由来抗マウス IgG (1:5000, NA931, GE)。タンパク質バンドは化学発光 CCD イメージングシステムで検出した。

MTA による分化誘導作用機構の検証

96 ウェルプレートに  $1 \times 10^5$  個の RCM-1 細胞を播種して 24 時間培養後に試料を添加した。試料添加後、倒立顕微鏡下で 96 時間まで断続的に形成されるドームを観察し、ドーム数を計数した。

MTA によるアポトーシス誘導作用の有無の検証

カスパーゼ-3/7 活性は、カスパーゼ-3/7 蛍光アッセイキット (10009135, Cayman Chemical) を用い、蛍光強度 (励起: 485 nm, 蛍光: 535 nm) をマイクロプレートリーダー (Infinite 200 PRO, Tecan Trading AG) により測定した。

#### (2) MTA を哺乳動物が摂取したときに得られる発がん抑制効果の検討

### MTAの乳腺発がん予防効果のF344ラットでの検討

F344雌ラット60匹を3群に分け、5-9週齢時に乳腺発がんを促進する目的で各群に高脂肪食(Quick Fat, 日本クレア)を与え、7週齢時に乳腺発がん物質である7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセンを50 mg/kg体重の用量で1回強制経口投与した。10週齢時以降はMTAを0%(対照), 0.0025%, 0.005%の濃度で滅菌水に溶解して23週間飲水投与するとともに、乳がんの発生を触診にて経時的に観察した。

### MTAの大腸発がん予防効果のF344ラットでの検討

F344雄ラット60匹を3群に分け、6週齢時に大腸発がん物質である1,2-ジメチルヒドラジン(DMH)を40 mg/kg体重の用量で3回/週皮下投与し、7週齢時から4週間、MTAを0%(対照), 0.0025%, 0.005%の濃度で滅菌水に溶解して26週間飲水投与した。また、大腸粘膜上皮に対するMTAの影響を解析する目的で、同系雄ラット16匹を4群に分け、DMHとMTAを0%(対照), 0.0025%, 0.005%の濃度で4週間飲水投与する3群に加え、1群は陰性対照として、6週齢時に媒体の生理食塩水を、7週齢時から滅菌水を与えた。MTA投与期間終了時点で全てのラットをイソフルラン深麻酔下にて放血して安楽死させ、大腸組織を採取した。

### MTAの腫瘍増殖抑制効果のヌードマウスでの検討

8週齢雌性ヌードマウス(BALB/cSLc-nu/nu)20匹の右背部にヒト大腸がん細胞(RCM-1細胞)  $2.5 \times 10^6$ 個を皮下注射により移植した。細胞移植7日目にすべてのマウスで腫瘍の発生を確認した後、2群に分け、MTAを0(対照), 0.05%の濃度で水道水に溶解して飲水投与を開始した。経時的に腫瘍径を計測し、腫瘍体積を算出した。細胞移植28日目に腫瘍を摘出し、腫瘍重量を測定した。

### (3) MTAの前駆体であるMTAEの桂ウリにおける含有量の定量

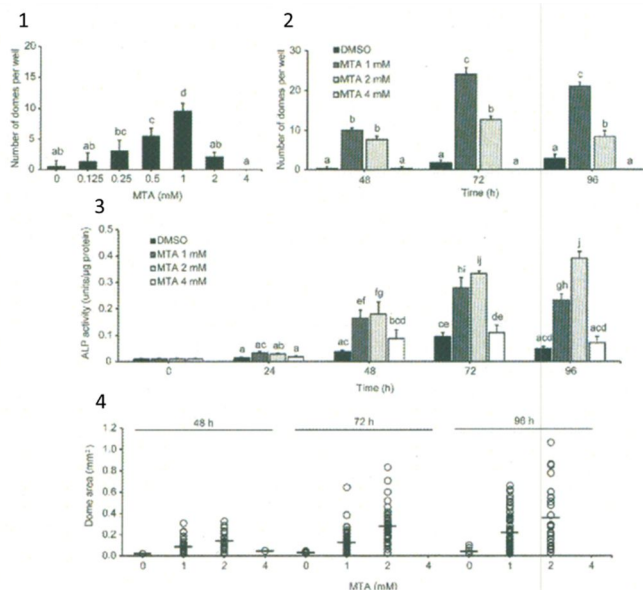
桂ウリ果実をミキサーで破砕したペースト20gをn-ヘキサン4 mLで4回抽出した後20 mLに定容し、無水硫酸ナトリウムを加え脱水した。これを試料溶液とし、電子イオン化法を用いたガスクロマトグラフィーマススペクトロメーター(GC-EI-MS; GCMS-GP2010SE, 島津製作所)によりMTAEを含む香気成分を定量した。カラムにはRtx-5MS(0.25 mm x 30 m, 膜厚0.25  $\mu$ m, Restek)を、キャリアガスにはヘリウム(99.99995%)を用いた。キャリアガス流量は1.0 mL/minとし、気化室とイオン源の温度はそれぞれ250°Cと200°Cとした。カラムオープン温度は60°Cで5分間保持し、5°C/minで100°Cまで昇温した(計13分)。試料注入量は2-5  $\mu$ Lとした。標準品としてMTAEをn-ヘキサンで0.1, 1, 3, 5, 10, 100 ng/mLの濃度に調整した溶液を用いた。選択イオン検出(SIM)モードで分析した標準品の結果から検量線を作成し、これをもとに試料溶液を定量した。上記条件においてMTAEの保持時間は7.1分であり、分子イオンとフラグメントイオンm/z(相対強度)は次のとおりであった: MTAE 134 [M]<sup>+</sup>(68, 確認イオン), 88(56, 確認イオン), 70(10), 61(100, 定量イオン), 60(12), 45(10)。

## 4. 研究成果

### (1) MTAがヒト大腸がん細胞に及ぼす分化誘導作用の機構解明

MTAによる分化誘導作用の形態的分化マーカーを用いた検証

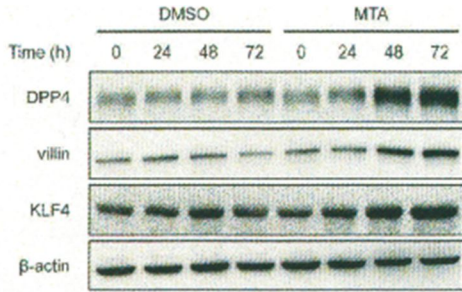
MTPEおよびMTAはヒト大腸がん細胞のRCM-1細胞に処理するとドーム状の形態変化を呈し、分化マーカーであるALPの活性を上昇させる。さまざまな大腸がん細胞株でドームは形態的分化マーカーとして認識されているため、ドーム形成とRCM-1細胞の分化の関連の有無をまず検討した。その結果、MTAの処理(0.125-4 mM)は用量依存的(0.125-1 mM, 右図1)且つ時間依存的(48-96時間, 右図2)にドームの数を増加させ、同時にALPの活性も上昇させた(右図3)。一方、高用量のMTA(4 mM)処理ではドームは形成されず、ALP活性も低下したことから、ドーム数とALP活性との間には相関関係があることの裏付けを得た。興味深いことに、MTA 2 mM処理時には1 mM処理時よりもALP活性は高値を示した。すなわち、生化学的マーカー上は分化が強く誘導されている



ように見えたときに、形態的分化マーカーであるドーム数が減少する一方で、ドームひとつあたりの面積は増大していた（右図4）。

### MTAによる分化誘導作用の生化学的分化マーカーによる検証

RCM-1細胞にMTAを処理した際の生化学的分化マーカーの3タンパク質（DPP4, villin, KLF4）の量的変化をイムノブロット法により解析した。MTA 1 mM 処理 48 時間後と 72 時間後



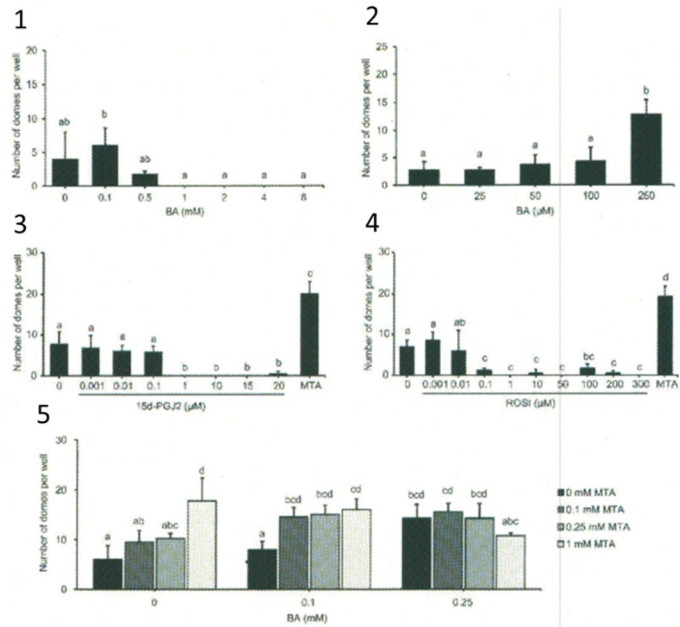
にいずれのマーカーも存在量が増加した（左図）。このことから、MTAがヒト大腸がん細胞 RCM-1 細胞に対して分化誘導効果を与えることが形態的分化マーカーと生化学的分化マーカーの両方から証明された。腸上皮細胞で発現する2つのタンパク質、セリンプロテアーゼ DPP4 と細胞骨格に關与する villin は、ALP 活性の上昇に伴って増加したことから、MTA の分化誘導作用は大腸がん細胞を微絨毛をもつ腸上皮細胞へと分化させる方向に働いていることが示唆された。一方、KLF4 は正常な腸組織に

おいて結腸の杯細胞への最終分化に必要なジンクフィンガー転写因子であることから、MTA は RCM-1 細胞を複数のタイプの分化細胞（腸上皮細胞および杯細胞）へと誘導している可能性も示唆された。

### MTAによる分化誘導作用機構の検証

酪酸（BA）は、食物繊維が腸内細菌発酵により生成する短鎖脂肪酸であり、哺乳類の腸内腔に mM 濃度で存在する。BA は、2 mM 程度で LS174T や Caco-2 などの結腸癌細胞のドーム形成を促進することが報告されているが、RCM-1 細胞では 100-250 μM の低濃度の狭い範囲でドーム形成を促進した（右図1, 2）。このことは、RCM-1 が他の大腸がん細胞（LS174T と Caco-2）と比較してドーム形成に関する BA 感受性が高いことを示唆している。BA は MTA の硫黄原子が炭素原子に置き換わった類似化合物であることから、化学構造のわずかな差が分化誘導の差を生じさせたことは興味深い。BA と同様に MTA は RCM-1 細胞のドーム数を 0.125-2 mM の範囲で増加させるが、MTA と BA を同時処理すると低濃度の範囲（0.1 mM BA および 0.1 または 0.25 mM MTA）でドーム形成に対する相加効果を示した（右図5）。

これらの結果は、MTA と BA が RCM-1 細胞におけるドーム形成を部分的に同じかまたは類似の経路を介して促進することを示唆している。したがって、MTA は BA よりも RCM-1 細胞に対する毒性が低く、広い濃度範囲で分化誘導能を発揮するため、RCM-1 細胞に性格が近い大腸がん細胞の分化誘導により適している可能性がある。また、Caco-2 細胞のドーム形成を増強する PPAR $\gamma$  アゴニストの 15-deoxy- $\Delta$ 12,14-prostaglandin J $\alpha$  (15d-PGJ $2$ ) と rosiglitazone (ROSI) の効果は、RCM-1 細胞に対しては見られなかったことから RCM-1 細胞は PPAR $\gamma$  を介した分化経路を喪失していると考えられた（上図3, 4）。以上のように、RCM-1 細胞の分化誘導に係る情報伝達機構の一端が明らかとなり、がん細胞の特性を判定した上で適切な分化誘導物質を選択することで、より高い効果を発揮できるがん予防治療法の提案が可能であると考えられた。



### MTAによるアポトーシス誘導作用の有無の検証

結果として MTA は RCM-1 細胞の分化を誘導するだけでなくアポトーシスも誘導できることが明らかになった。RCM-1 細胞の増殖は、2 mM 以上の BA、50 μM 以上の 15d-PGJ $2$ 、または 200 μM 以上の ROSI によって遅延された。さらに、BA および 15d-PGJ $2$  は、RCM-1 細胞のカスパーゼ-3/7 活性を増加させた。これらの結果は MTA に加えて BA と 15d-PGJ $2$  が RCM-1 細胞のアポトーシスを誘導することを示している。注目すべきは、既知のアポトーシス誘導物質の actinomycin D (AD, 1-10 nM) と 5-fluorouracil (5-FU, 10 μM) が RCM-1 細胞のドーム形成を促進したことであり、分化とアポトーシスの間の密接な関係が示唆された。分化とアポトーシスの間を結ぶ機構は不明であるが、MTA と BA は RCM-1 細胞において用量依存的に分化とアポ

トーシスを誘導したため、両物質は RCM-1 細胞では同じかまたは類似の経路を介している可能性がある。MTA はこれを摂取した場合にのみヒトの腸内で存在する物質であるが、BA は常在する物質であるため BA の分化とアポトーシスに関する研究データは MTA に比べて多い：細胞周期制御 (Heerdt ら, 1997; Litvak ら, 1998), ヒストン脱アセチル化酵素の阻害などのエピジェネティックな制御 (Davie, 2003), 情報伝達機構 (Bordonaro ら, 2002; Orchel ら, 2005), 酸化制御 (Domokos ら, 2010)。このため、MTA による分化とアポトーシスの機構を詳細に解明するためには、既知の BA 関連の情報伝達経路に与える MTA の影響を解析するというアプローチは有効であると考えられた。今後、MTA の大腸がん細胞に及ぼす生化学的な機構を明らかにすることが、MTA を利用した新たながん治療法を開発するために必要かつ重要であると考えられる。

## (2) MTA を哺乳動物が摂取したときに得られる発がん抑制効果の検討

### MTA の乳腺発がん予防効果の F344 ラットでの検討

MTA 経口投与により、DMBA 誘発乳がんモデルに高脂肪食を負荷した試験系で、触診で検出できた乳がんの発生数は対照群に比べ、発がん抑制(腺がんの発生数減少)傾向がみられた。一方、発生頻度と体積に明らかな差はなかった。また、剖検後の非がん部の乳腺組織から抽出した総 RNA の DNA マイクロアレイ解析をおこなった結果、MTA 経口投与により乳腺組織で *Acsm5* や *Cox8b* など代謝関連遺伝子の発現上昇がみられ、発現低下した遺伝子には炎症に関連する *Lcn2* や *Cxcl2* のほか、Wnt シグナルのリガンドである *Wnt10a* が含まれていた。以上より、MTA は DMBA によるラット乳腺発がんに対する抑制作用を示すときに、乳腺組織における脂質代謝やエネルギー代謝に関連する遺伝子や Wnt シグナル、炎症関連シグナルを介して発がんに関与する遺伝子の発現を変化させる可能性が示された。以上のことから、MTA は DMBA によるラット乳腺発がんに対する抑制作用があること、乳腺組織における脂質代謝やエネルギー代謝に関連する遺伝子、あるいは発がんに直接関与する遺伝子の発現を変化させる可能性が示された。

### MTA の大腸発がん予防効果の F344 ラットでの検討

MTA 経口投与により DMH 誘発大腸がんモデルでも発がん抑制(腺がんの発生数減少)傾向がみられた。結腸粘膜においては、MTA の経口投与により、炎症に関連する遺伝子など乳腺組織と共通して発現低下する遺伝子も抽出された。

### MTA の腫瘍増殖抑制効果のヌードマウスでの検討

皮下移植した腫瘍体積は、MTA 群において対照群よりも低値傾向を示し、細胞移植 25 日目で統計学的な有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。一方、腫瘍重量では統計学的な有意差は認められなかったが、MTA 群において対照群よりも低値傾向を示した ( $p = 0.320$ )。これらのことから MTA の経口摂取は腫瘍増殖抑制作用をもつ可能性が示唆された。しかし、MTA 群において飲水量が対照群と比較して 15%減少していたため、今後、飲水量が減少しない MTA 投与量と投与方法の条件を確定した後、効果を再検討する必要があると考えられる。

## (3) MTA の前駆体である MTAE の桂ウリにおける含有量の定量

桂ウリ果実は熟度による香気成分の生成量が異なるため、熟度ステージを 1 から 5 の 5 段階に分けて MTAE を定量した。ステージ 1 から 3 の果皮が青い熟度段階では果肉 100 g あたり MTAE は  $< 0.01 \mu\text{g}$  であったが、ステージ 4 の果皮が薄く白くなる熟度段階では  $0.19 (0.05-0.28) \mu\text{g}$  に増加し、ステージ 5 の果皮が黄色くなり芳香を放つ完熟段階では  $1.05 (0.82-1.47) \mu\text{g}$  にまで増加した。このことから、今後 MTA を利用した新たながん治療法を開発する上で桂ウリを用いる場合は、果皮が黄色となる完熟段階に達した果実を用いることが重要であると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 SASAKI Azusa, NAKAMURA Yasushi, KOBAYASHI Yukiko, AOI Wataru, NAKAMURA Takako, SHIROTA Koji, SUETOME Noboru, FUKUI Michiaki, MATSUO Tomoaki, OKAMOTO Shigehisa, TASHIRO Yuri, PARK Eun Young, SATO Kenji	4. 巻 66
2. 論文標題 Contribution of Katsura-uri (Japan's Heirloom Pickling Melon, Cucumis melo var. conomon at the Completely Ripe Stage to Diabetes Control	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 261 ~ 269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.66.261	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 Kamimura Miyu, Sasaki Azusa, Watanabe Shimpei, Tanaka Shiho, Fukukawa Akiko, Takeda Kazuya, Nakamura Yasushi, Nakamura Takako, Kuramochi Kouji, Otani Yui, Hashimoto Fumio, Ishimaru Kanji, Matsuo Tomoaki, Okamoto Shigehisa	4. 巻 10
2. 論文標題 Chemical and molecular bases of dome formation in human colorectal cancer cells mediated by sulphur compounds from Cucumis melo var. conomon	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 2640 ~ 2655
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13001	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 Kamimura Miyu, Sasaki Azusa, Otani Yui, Nakamura Yasushi, Nakamura Takako, Kuramochi Kouji, Imai Toshio, Kubo Nakao, Okamoto Shigehisa	4. 巻 48
2. 論文標題 Methylthioacetic acid, a derivative of aroma compounds from Cucumis melo var. conomon; dose-dependently triggers differentiation and apoptosis of RCM-1 human colorectal cancer cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 25 ~ 35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.48.25	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Azusa Sasaki
2. 発表標題 Contribution of the fruits having fruity fragrance and low-sugar content to diabetes control
3. 学会等名 The 5th Joint Symposium by Seven Universities in Thailand and Japan “Basic and Applied Studies of Plant Natural Products for Agriculture and Human Health”（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miyu Kamimura
2. 発表標題 The two key regulators of cell division cycle, CDC25A and Cyclin E2 are closely associated with MTA-mediated duct formation
3. 学会等名 The 5th Joint Symposium by Seven Universities in Thailand and Japan “Basic and Applied Studies of Plant Natural Products for Agriculture and Human Health”（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野木千陽, 佐々木梓沙, 田代有里, 中村考志, 岡本繁久, 今井俊夫
2. 発表標題 悪性腫瘍皮下移植マウスにおけるメチルチオ酢酸の腫瘍増殖抑制効果
3. 学会等名 がん予防学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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	今井 俊夫	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・施設長	
	(Imai Toshio)		
	(20342884)	(82606)	

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	岡本 繁久  (Okamoto Shigehisa)  (30211808)	鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・准教授    (17701)	
研究分担者	佐々木 梓沙  (Sasaki Azusa)  (90761966)	京都府立大学・生命環境科学研究科・助手    (24302)	

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1件

国際研究集会 The 5th Joint Symposium by Seven Universities in Thailand and Japan “Basic and Applied Studies of Plant Natural Products for Agriculture and Human Health”	開催年 2019年～2019年
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------

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