

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06058

研究課題名(和文) イネ白葉枯病菌の病原性関連遺伝子群hrpの感染過程に応じた発現制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of infection-specific hrp gene expression in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

研究代表者

津下 誠治 (Tsuge, Seiji)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：10254319

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：イネ白葉枯病菌のもつtype IIIタンパク質分泌装置は、宿主防御応答を抑制するタンパク質を宿主細胞内へ導入する重要な病原因子であり、感染時特異的に発現するhrp遺伝子群により構築される。本研究では、環境シグナルに応答して合成/分解される細菌のセカンドメッセンジャーcyclic-di-GMPによりその活性を制御される転写制御因子Clpがhrp遺伝子群の発現制御経路の少なくとも5か所において本遺伝子群の発現制御に関わることを明らかにした。このことは本遺伝子群の発現には、宿主植物体上で得られる複数のシグナルが必要であることを示している。また、これらの制御の1つに関わるシグナル受容因子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

白葉枯病菌を原因細菌とするイネ白葉枯病は、熱帯アジアを中心に甚大な被害をもたらしている。本病に卓効を示す防除資材は未だ開発されておらず、抵抗性品種の栽培がほぼ唯一の防除手段となっているが、抵抗性品種を侵す新たな細菌系統の出現も頻繁に見られ、これが有効な防除手段となっているとはいえない。hrp遺伝子群の感染時特異的な発現は、本細菌の最も重要な病原性機構であり、その発現阻害剤は本病に対する防除資材開発における格好のターゲットとなり得る。本研究ではhrp遺伝子群の発現制御機構の全貌解明には至っていないものの、それにつながる、そしてそれをターゲットとする防除資材開発につながる重要な知見を提供している。

研究成果の概要(英文)：Xanthomonas oryzae pv. oryzae, the causal bacterial agent of the rice leaf blight disease, directly introduces dozens of proteins into rice cells through the type III secretion system, which is essential for suppressing plant defense responses. Components of the system are encoded in hrp genes, expression of which is specifically induced in plants. In this study, importance of a global transcription factor Clp in regulation of hrp gene expression was shown. I found that Clp regulates hrp gene expression at multiple (at least 5) sites in the regulatory cascade. As activity of Clp is regulated by a bacterial second messenger cyclic-di-GMP, which is synthesized/degraded in response to environmental signals, the findings indicate that the expression of hrp genes requires multiple signals on the host plant. Moreover, a signal receptor involved in one of Clp-dependent regulations was found.

研究分野：植物病理学

キーワード：イネ白葉枯病菌 hrp遺伝子 type III分泌装置 遺伝子発現 cyclic-di-GMP

1. 研究開始当初の背景

白葉枯病は、熱帯アジアを中心に世界の稲作地帯で発生するイネの重要病害である。本病害に対して卓効を示す薬剤は開発されておらず、抵抗性品種の育成・栽培が主たる防除手段となっている。しかし、長期間かけて育成した抵抗性品種を侵す新たな病原株の発生により、再び新たな抵抗性品種を開発せざるを得ないといった状況が繰り返され、必ずしも本防除法が成功しているとは言えない。したがって増大する世界人口を維持する食糧(米)生産のためには、本病防除のための新たな資材・薬剤の開発が望まれており、そのためには本病原体の病原性機構の解明が必須となる。

本病の病原体はイネ白葉枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)と呼ばれるグラム陰性細菌であり、イネ葉の導管内で爆発的に増殖し、葉枯れや萎凋症状を引き起こす。本細菌の病原性には、type III 分泌システム(TTSS: type III secretion system)と、それを介して直接植物細胞に導入される数十種に及ぶタンパク質が必須である。これらのタンパク質により、イネの防御機構が抑制され、イネ葉内での細菌の定着・増殖が可能になる。このように、TTSS の構築は白葉枯病菌が感染を成立させるうえで最も重要なステップであり、それゆえ、その構築を可能にする TTSS の構成成分をコードする *hrp* 遺伝子群の感染特異的な発現制御機構は本病防除資材の開発する上で、有効なターゲットの1つとなり得る。

当初、*hrp* 遺伝子群の発現は、2つの制御因子 HrpG と HrpX により制御されており、植物・環境シグナルの受容による HrpG のリン酸化、リン酸化 HrpG による HrpX の発現誘導、および HrpX による他の *hrp* 遺伝子の発現誘導という3つのステップで行われると考えられていた。しかし、筆者を含めた世界の研究者により、これらに加えて、*hrpG* や *hrpX* の転写、あるいは HrpX の蓄積を制御する因子が複数存在すること、さらにそれらの因子の中には、ガラクトースやキシロースの代謝に関連する遺伝子群を含めた他の遺伝子群の発現制御にも関わるものが存在することがわかってきた。このように *hrp* 遺伝子群の発現制御は、多くの因子が介在し、他の病原性関連遺伝子も含めた複雑な制御ネットワークの中にあることがわかってきていたが、その全貌の解明には至っていなかった。

一方、環境シグナルに応答して合成/分解される細菌のセカンドメッセンジャー cyclic-di-GMP の解離と結合により、それぞれ活性化、あるいは不活性化されるグローバル転写制御因子 Clp は、菌体外多糖や菌体外酵素といった白葉枯病菌の病原因子の生産に関わる。また、RpfC/RpfG は細菌密度の増加を感知し、cyclic-di-GMP の分解に関わる二成分制御系であり、これが機能すると Clp の活性化にともない菌体外多糖や菌体外酵素の生産に関わる遺伝子の活性化が誘導されることが知られていた。

2. 研究の目的

筆者は、cyclic-di-GMP の高生産変異株で *hrp* 遺伝子群の発現が増大すること、および *hrp* 遺伝子群の発現は感染極初期に特異的に増大することを見出ししていた。既報の知見に加えてこれらの予備知見を基に、イネ白葉枯病菌の *hrp* 遺伝子群の発現制御について、感染極初期においては、低細菌密度による高 cyclic-di-GMP 濃度のため宿主防御応答の抑制に必要な *hrp* 遺伝子群の発現が誘導される、一方で、一定の細菌増殖を果たした感染中/後期においては、*hrp* 遺伝子群の発現を抑制し、逆に各種ストレスから細菌自身を守るための菌体外多糖や、宿主細胞壁(道管壁)の分解により栄養を獲得するための菌体外分泌酵素の生産を増大させる、そしてそのための遺伝子発現の切換えスイッチとして RpfC/RpfG-cyclic-di-GMP-Clp を利用しているとの仮説を立てた。その仮説の検証を中心とした cyclic-di-GMP と Clp を介した *hrp* 遺伝子群の発現制御機構の解明を本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) Clp 欠損変異株を作出し、本変異株における *hrp* 遺伝子、および *hrp* 制御遺伝子の発現を GUS (β -グルクロニダーゼ)レポーター法により調べた。また、*hrpG* 遺伝子上流を改変することで、*hrpG* の発現制御に関わる Clp の作用部位を明らかにした。

(2) 白葉枯病菌のトランスポゾン挿入変異株の中から、Clp により発現制御を受け、かつ *hrpG* の発現を制御する遺伝子に変異をもつ株を探索し、その変異遺伝子を同定した。さらに同遺伝子欠損株を用いたトランスクリプトーム解析を行い、それが制御する遺伝子を同定するとともに、その制御機構を解明した。

(3) 細菌密度依存的な Clp の活性化/不活性化に関わる RpfC/RpfG の *hrp* 遺伝子群の発現制御の有無について GUS レポーター法により調べた。

(4) 白葉枯病菌のゲノム中には cyclic-di-GMP の合成/分解に関わるタンパク質をコードすると予想される遺伝子の欠損変異株を作出し、それらの *hrp* 遺伝子群の発現への関与を調べた。

4. 研究成果

(1) *hrp* 遺伝子群ならびにその発現制御因子の発現への関与を調べた。*hrp* 遺伝子群の1つである *hrcU* と *hrp* 制御遺伝子である *hrpG* および *hrpX* のプロモーター領域に β -グルクロニダーゼ遺伝子(*gus*)を連結させたプラスミドを構築し、これを環境シグナルに応じて種々の遺伝子の発現を制御するグローバル転写制御因子 Clp の欠損株に導入し、それらの GUS 活性を測定した。その結果、Clp は *hrp* 遺伝子群の発現を、その発現制御カスケードの多段階で、かつ独立して制御していること、そして *hrpG* と *HrpX* 被制御遺伝子の *hrcU* の発現は負に、*hrpX* の発現に関しては正に制御していることがわかった (図 1)。

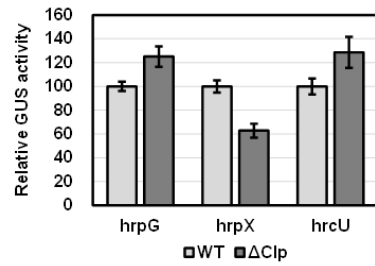


図 1. *hrpG::gus*、*hrpX::gus*、および *hrcU::gus* を導入した野生株 (WT) と Clp 欠損株 (Δ Clp) における相対的 GUS 活性値

(2) Clp による *hrpG* の発現制御機構について解析を行った。*hrpG* の上流領域の長さを変えた *gus* 融合プラスミド、およびその上流領域に塩基置換を導入した *gus* 融合プラスミドを導入した野生株および Clp 欠損変異株の GUS 活性を測定することで、Clp の *hrpG* プロモーター領域における作用部位を調べた。その結果、Clp は *hrpG* プロモーター領域の少なくとも 2ヶ所において作用し、その発現を負に制御していることがわかった。そのうちの1つは、筆者がすでに報告している *hrpG* の発現を正に制御する転写因子 GamR の結合部位と同一であった (別の1つについては後述)。図 2 に示すように、GamR 結合部位を塩基置換した場合や GamR 欠損株では、Clp 欠損による *hrpG* 発現の増加は見られなくなった。また、Clp 欠損株における *gamR* の発現を調べたところ、野生株と差異は認められなかったことから、Clp は直接、あるいは何らかの未知因子を介して *hrpG* プロモーター領域への結合を阻害するなど GamR の機能を阻害することで *hrpG* の発現を負に制御することが示唆された。

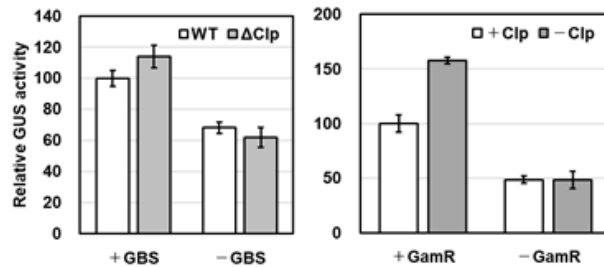


図 2 (左) GamR 結合部位 (GBS) における塩基置換変異を導入していない (+GBS)、および導入した (-GBS) *hrpG::gus* 融合遺伝子をもつ野生株 (WT) と Clp 欠損株 (Δ Clp) の相対的な GUS 活性値。(右) GamR、あるいは Clp 欠損株、および両遺伝子の欠損株に *hrpG::gus* 誘導遺伝子を導入した際の相対的 GUS 活性値

(3) トランスポゾン法を用いて作出した白葉枯病菌変異株の中から、*hrpG* の発現が増加する変異株を得た。本変異株は転写制御因子 XibR をコードする遺伝子にトランスポゾンの挿入が見られた。Clp 欠損株において *xibR* の発現は有意に抑制されていたことから、XibR は Clp による *hrpG* の発現抑制を介在する因子であることが示唆された (図 3)。*hrpG* のプロモーター領域における XibR の作用部位を調べたところ、GamR や *hrpG* プロモーター内にある GamR 結合部位は XibR による *hrpG* の発現抑制には関与せず、GamR 結合部位の下流に XibR の作用部位が存在することがわかった。これらの結果は、Clp による *hrpG* の発現抑制経路として、GamR の機能阻害を介した経路と XibR の発現抑制を介した経路の2つが存在することを示している。

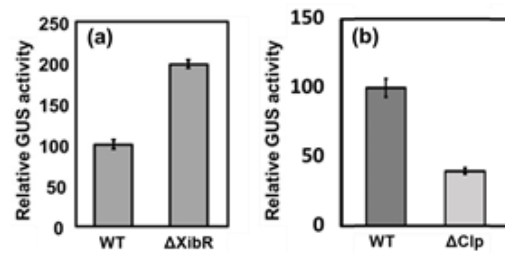


図 3. *hrpG::gus* 融合遺伝子を導入した野生株 (WT) と XibR 欠損株 (Δ XibR) (a) および *xibR::gus* 融合遺伝子を導入した野生株と Clp 欠損株 (Δ Clp) (b) における相対的 GUS 活性値

(4) Clp による *hrpG* の発現抑制を介在する XibR が制御する遺伝子を調べるために、XibR 欠損株のトランスクリプトーム解析を行った。その結果、XibR が制御する遺伝子は多く無いものの、*hrp* 遺伝子群だけでなく、セルロースとキシロシダーゼをコードする2つの遺伝子が座乗するオペロン A、および機能未知タンパク質 B をコードする遺伝子の発現が XibR によりそれぞれ負、および正に制御されていることがわかった (図 4 a, b)。また、オペロン A に座乗するセルロースやキシロシダーゼ遺伝子は *hrpG* の発現に関与しないものの、遺伝子 B にコードされる機能未知タンパク質は *hrpG* とオペロン A の両方の発現抑制に関与することが示された (図 4 a, c)。これらの結果から、Clp-XibR は機能未知タンパク質 B を介して、*hrp* 遺伝子群の発現だけでなく、セルロース遺伝子とキシロシダーゼ遺伝子を併せて負に制御することが示された。

(5) 細菌密度の増加にともない cyclic-di-GMP を分解することで菌体外多糖や菌体外分泌酵素の生産の増大させる二成分制御系 RpfC/RpfG の *hrp* 遺伝子発現への関与を調べるため、酵素機能

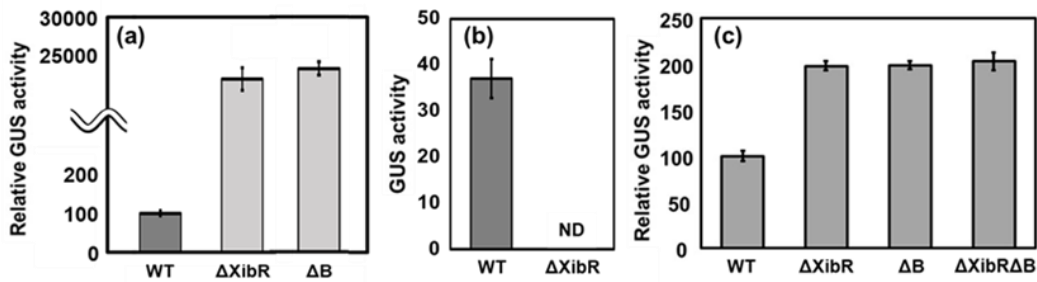


図 4. (a) セルロースおよびキシロシダーゼ遺伝子の座乗するオペロン A のプロモーターを付加した *gus* 遺伝子を導入した野生株 (WT)、XibR 欠損株 (Δ XibR)、および機能未知タンパク質をコードする遺伝子 B 欠損株 (Δ B) における相対的 GUS 活性値。(b) 遺伝子 B と *gus* の融合遺伝子を導入した野生株と XibR 欠損株における GUS 活性値。(c) *hrpG::gus* 誘導遺伝子を導入した野生株、XibR 欠損株、遺伝子 B 欠損株、および XibR と遺伝子 B の二重欠損株 (Δ XibR Δ B) における相対的 GUS 活性値

をもつ RpfG の欠損株における、*xibR* と *hrpG* の発現を調べた。しかし、両遺伝子ともにその発現は野生株と RpfG 欠損変異株で差異は認められず、細菌密度依存的に機能する RpfC/RpfG-Clp システムが *hrp* 制御遺伝子 *hrpG* の発現制御には関与しないことが示された。

(6) 白葉枯病菌のもつ cyclic-di-GMP の合成・分解因子をコードすると予想される 27 遺伝子について、それぞれの欠損変異株を作成し、それらにおける *xibR* および *hrpG* の発現を調べたが、両遺伝子の発現が野生株と比較して顕

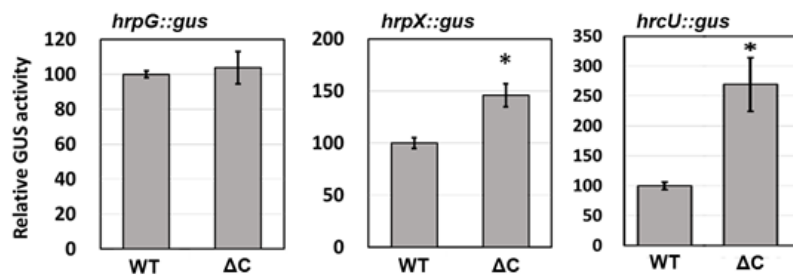


図 5. 野生株 (WT) および cyclic-di-GMP の合成・分解に関わるタンパク質をコードする遺伝子 C の欠損株 (Δ C) に *hrpG*、*hrpX*、および *hrcU* と *gus* との融合遺伝子を導入した際の相対的 GUS 活性値

著に変化する変異株は得られなかった。その理由として、複数の cyclic-di-GMP の合成・分解因子が *xibR* および *hrpG* の発現制御に関して同一の機能をもつこと、および *xibR* および *hrpG* の発現制御に関わる cyclic-di-GMP の合成・分解因子は、*hrp* 非誘導条件下でそれらの遺伝子の発現抑制に関わり、本研究で用いた *hrp* 誘導条件下では機能していない可能性が考えられた。今後、cyclic-di-GMP の合成・分解に関わる遺伝子の多重欠損変異株の作出、あるいはそれらの過剰発現株の作出を検討する必要がある。

一方、上記で得た cyclic-di-GMP の合成・分解遺伝子欠損変異株のうち、その合成と分解に関わる両ドメインを併せもつタンパク質をコードする遺伝子 C については、その欠損が *hrpG* の発現には影響を与えないものの、HrpG によって制御される *hrpX*、および *hrpX* の制御する他の *hrp* 遺伝子群の発現増加を引き起こすこと (図 5)、そしてそれらの発現増加に伴い、TTSS を介して

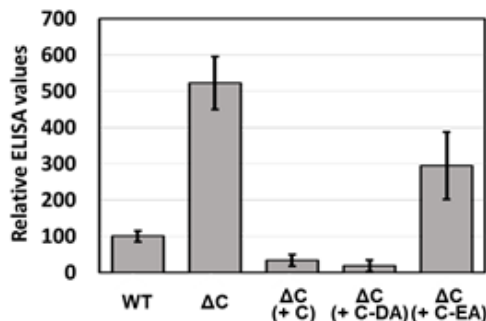


図 6. 野生株 (WT)、遺伝子 C 欠損変異株 (Δ C) および同欠損株に遺伝子 C (+C)、遺伝子 C の cyclic-di-GMP 合成ドメインに 1 アミノ酸置換をもつタンパク質をコードする変異型遺伝子 C (+C-DA)、あるいは cyclic-di-GMP 分解ドメインに 1 アミノ酸置換をもつタンパク質をコードする変異型遺伝子 C (+C-EA) における Hpa1 の分泌を ELISA 法によって調べた。

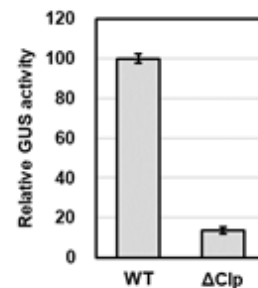


図 7. 遺伝子 C と *gus* との融合遺伝子を野生株 (WT) と Clp 欠損変異株 (Δ Clp) に導入した際の相対的 GUS 活性値

分泌するタンパク質 Hpa1 の細菌細胞外への分泌が増加することも確認された (図 6)。また、cyclic-di-GMP の合成・分解に関わるそれぞれのドメインにアミノ酸置換を導入することにより、タンパク質 C による cyclic-di-GMP の分解が、その制御に重要であることが明らかとなった (図 6)。さらに、Clp の活性化・不活性化に関与する cyclic-di-GMP の合成・分解酵素をコードする遺伝子 C の発現が Clp の制御下にあることも見出した (図 7)。これらの結果は、未知の cyclic-di-GMP の分解酵素による cyclic-di-GMP の分解に伴い活性化した Clp が遺伝子 C の発現を活性化する、そしてその結果生産されたタンパク質 C による cyclic-di-GMP 分解とそれに伴う Clp の活性化が *hrpX* の発現を抑制することを示唆している。上記(1)で述べたように、Clp 欠損株では *hrpX* の発現が低下する。一方で、タンパク質 C による Clp の活性化はむしろ *hrpX* の発現を抑制させる。この相反する結果は、*hrpX* の発現増加に関わる別の cyclic-di-GMP の分解因子 (Clp を活性化させる因子) の存在を想定することで説明できる。

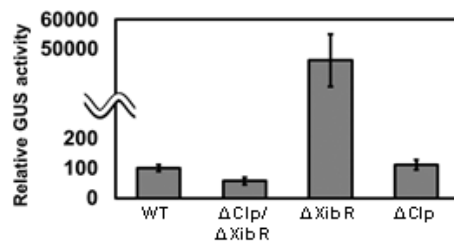


図 8. オペロン A のプロモーター下流に *gus* 遺伝子を連結したプラスミドを野生株 (WT)、XibR 欠損株 (ΔXibR)、Clp 欠損株 (ΔClp)、および XibR と Clp の二重欠損株 (ΔClpΔXibR) に導入した際の相対的 GUS 活性値

(7) (4) で述べたように、Clp により正の制御を受ける XibR は、*hrp* 遺伝子群とともにセルラーゼとキシロシダーゼ遺伝子の座乗するオペロン A を負に制御する。しかし、Clp と XibR の二重欠損株では、XibR 単独欠損株で見られた本オペロンの発現増加が見られなくなった。このことは、Clp は XibR を介する経路において本オペロンの発現を負に制御する一方で、XibR を介さない経路においては正に制御していることを意味している。先述のように、他の *Xanthomonas* 属細菌では細菌密度依存的に活性化する Clp がセルラーゼをはじめとする菌体外分泌酵素の生産を正に制御することが報告されている。オペロン A の発現を正に制御する因子は、細菌密度依存的に cyclic-di-GMP を分解する RpfC/RpfG の可能性も考えられ、今後その検証が必要である。

白葉枯病菌のゲノム中にはオペロン A に座乗するセルラーゼとキシロシダーゼ遺伝子のほかに、それと類似した機能をもつ酵素遺伝子が複数存在するが、XibR による顕著な制御が見られたのはオペロン A に座乗する 2 つのみであった。植物病原細菌の TTSS は、植物細胞壁を通過して植物細胞膜にまで到達する必要がある。この植物細胞壁を通る際に、細菌自身の分泌する細胞壁分解酵素が重要な働きをするとの報告もみられる。TTSS の構築と同様に XibR によりその生産を制御されるセルラーゼとキシロシダーゼは、感染時において TTSS の植物細胞膜への到達を容易に、あるいは可能にする機能をもつのかかもしれない。

本研究により、Clp は *hrp* 遺伝子群の発現制御の複数の箇所に関与する重要な転写制御因子であることが明らかになった (図 9)。また、このことはその数に応じた環境シグナルとそれを受容する cyclic-di-GMP 合成/分解因子が *hrp* 遺伝子群の発現制御に関わることも意味している。また、cyclic-di-GMP による Clp の活性化/不活性化とそれともなう遺伝子発現制御は、従来考えられていた「細菌細胞内の cyclic-di-GMP の濃度」によるものではなく、局所的な、つまり特定の環境シグナルに応答する cyclic-di-GMP 合成/分解因子と Clp、そして Clp をその環境シグナルに応じて発現する遺伝子へとリクルートする因子との複合体によるものである可能性も考えられた。今後は、*hrp* 遺伝子群の発現制御の各段階で機能する Clp を活性化/不活性化するタンパク質、およびそれらが感知する環境シグナルの同定を進めることで、*hrp* 遺伝子群の発現制御に関わる環境シグナルの受容・伝達機構の解明を目指したい。

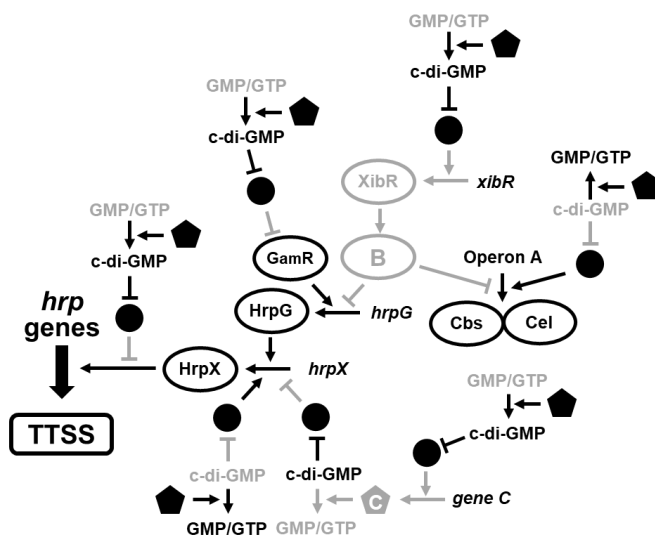


図 9. 本研究から想定される白葉枯病菌における Clp を介した *hrp* 遺伝子群の発現制御モデル
hrp 遺伝子群の発現誘導時には機能しないと予想される経路やタンパク質等は灰色で示す。
 黒丸: Clp、五角形: cyclic-di-GMP 合成/分解因子、Cbs: セロビオンダーゼ、Cel: セルラーゼ、Operon A、およびタンパク質 B と C はそれぞれ本文参照。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Seiji Tsuge, Yumi Ikawa	4. 巻 125
2. 論文標題 Close relationships between hrp gene expression and sugars/sugar metabolism in <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physiological and Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pmpp.2023.102003	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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 宮本祐奈・中村保乃華・伊川有美・津下誠治
2. 発表標題 イネ白葉枯病菌のグローバル転写制御因子C1pは病原力に關与するセロピオシダーゼ遺伝子cbsAの発現を正/負に制御する
3. 学会等名 令和5年度 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村保乃華・若狭洸哉・伊川有美・津下誠治
2. 発表標題 イネ白葉枯病菌においての推定cyclic di-GMP濃度調節因子X00_3074はhrp遺伝子の発現抑制に關与する
3. 学会等名 令和4年度 日本植物病理学会關西部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Seiji Tsuge, Yumi Ikawa, and Honoka Nakamura
2. 発表標題 Close relationships between hrp gene expression and sugar metabolisms in <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>
3. 学会等名 12th Japan-US Seminar in Plant Pathology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高岡麻紀・伊川有美・中村保乃華・津下誠治
2. 発表標題 Xanthomonas oryzae pv. oryzae の NtrC3 は hrp 遺伝子群の発現制御だけでなく、運動性およびセルラーゼやシデロフォアの生産に関与する
3. 学会等名 令和3年度日本植物病理学会関西支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村 保乃華・高岡麻紀・伊川有美・津下誠治
2. 発表標題 イネ白葉枯病菌のグローバル転写制御因子 Clp によるNtrC 様タンパク質 NtrC3 を介した 負のhrpG 発現制御
3. 学会等名 令和3年度 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊川有美・中村保乃華・高岡麻紀・津下誠治
2. 発表標題 イネ白葉枯病菌のCrp様タンパク質Clpのhrp遺伝子発現への関与
3. 学会等名 令和2年度 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Honoka Nakamura, Maki Takaoka, Yumi Ikawa and Seiji Tsuge
2. 発表標題 Identification of a novel regulator that mediates the interaction between cell density-dependent signaling cascade and hrp regulatory cascade in Xanthomonas oryzae pv. oryzae
3. 学会等名 12th Japan-US Seminar on Plant-Microbe Interactions (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都府立大学 生命環境科学研究科 応用生命科学専攻 植物病理学研究室 ホームページ
https://www2.kpu.ac.jp/life_envirom/plant_path/
京都府立大学 植物病理学研究室 ホームページ
https://www2.kpu.ac.jp/life_envirom/plant_path/

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------