

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：30109

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06425

研究課題名(和文) ウシ滑膜組織におけるマイコプラズマの高度免疫回避機構に関する細胞生物学的研究

研究課題名(英文) Cell biological studies on the mechanism of advanced immune evasion of mycoplasma in bovine synovial tissue.

研究代表者

樋口 豪紀 (Higuchi, Hidetoshi)

酪農学園大学・獣医学群・教授

研究者番号：00305905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マイコプラズマ性関節炎自然発症例における主たる病態は、関節液の白濁および増量、骨表面(軟骨)の融解・壊死も加え、炎症性サイトカインおよび軟骨基質分解酵素であるMMP-1およびMMP-3によるものであることが明らかになった。これらは実験感染でも極めて類似した動態を示すことが明らかになった。一連の応答はPBMC-secretomeで増強されたことから、組織における過剰炎症応答は白血球を介する免疫応答であることが明らかになった。さらにM. bovisの滑膜細胞侵入性はクラスリン依存性によるものであることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はマイコプラズマ関節炎の病態解明を目的とし、自然発症例および試験感染例での病態把握に加え、新たに樹立したウシ関節滑膜細胞を用い細胞生物学的アプローチを試みたものである。本研究においてM. bovisが関節組織の免疫学的応答性に及ぼす影響を解析することで、マイコプラズマ関節炎の病態メカニズムの一端が解明された。さらに、M. bovisの生存戦略の一つである細胞侵入性とその経路について分子生物学的および形態学的手法をもとに解明した。本研究はマイコプラズマ関節炎の病態および免疫学的特性を提示するものであり、得られた研究成果は本病の制圧技術構築において重要な知見になり得るものと期待される。

研究成果の概要(英文)：In spontaneous cases of mycoplasmal arthritis, the main pathogenesis was found to be due to inflammatory cytokines and cartilage matrix-degrading enzymes, MMP-1 and MMP-3, in addition to the cloudiness and thickening of joint fluid and the melting and necrosis of the bone surface (cartilage). These were found to have very similar kinetics in experimental infection. The series of responses was enhanced in the PBMC-secretome, indicating that the tissue hyperinflammatory response is a leukocyte-mediated immune response. Furthermore, the synovial cell invasiveness of M. bovis was found to be clathrin-dependent.

研究分野：獣医衛生学

キーワード：マイコプラズマ 関節炎 ウシ 病態形成メカニズム

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マイコプラズマは多くの動物種において慢性・持続性の感染症を惹起し、それらは難治性疾患へと移行することが獣医学領域において広く注目されている。マイコプラズマは長い進化の過程で自身のゲノムサイズと生物学的機能を極限まで退化（退行性進化）させ、宿主動物への機能的依存性を高めた。これらは生体におけるマイコプラズマの長期生存戦略の一端を担うとされるが、宿主免疫応答に関する研究知見は乏しく、その本質を解明するには至っていない。本研究では、人類にとって重要な生物資源であるウシに対し極めて重篤な感染症（ウシ難治性多発性関節炎）を引き起こすマイコプラズマ種（*Mycoplasma bovis*: *M. bovis*）に着目し、長期生存戦略に関わる機能的特性、すなわち *M. bovis* の免疫回避機構を解明する。一連の研究は我々が独自に分離培養に成功したウシ膝関節由来滑膜細胞によって網羅的に展開する。得られる知見は学術的に高い新規性を有し本感染症制圧に帰する基礎知見になることも強く期待される。

2. 研究の目的

本研究はこれまで獣医畜産領域において問題となってきた *M. bovis* によるウシの難治性関節炎について、細菌学および免疫学的見地から双方向性のアプローチを行うものである。本研究の主たる目的は *M. bovis* のウシ関節における病原性および侵襲性のメカニズムを細菌学および免疫学的見地から明らかにすることである。また、これまで獣医領域で着手されてこなかった関節組織の感染免疫そのものの解明を試みる。本課題の遂行によって得られる知見は、世界的に問題になっているマイコプラズマ関節炎に対する新たな防除技術の構築において、その基盤をなし得るものであり、生物資源の食品としての安全性や安定的確保において、重要な基礎情報となることが期待されるものである。

3. 研究の方法

①マイコプラズマ性関節炎自然発症例における病態解明および免疫学的解明

- 1) 供試子牛：本学附属動物医療センターで安楽殺された臨床的に健康なホルスタイン種子牛 3 頭(1-3 か月齢)およびマイコプラズマ関節炎に罹患したホルスタイン種およびジャージー種子牛 5 頭を供した。
- 2) 滑膜組織および関節液の分離：健康な子牛は右膝関節、マイコプラズマ関節炎罹患子牛は罹患関節から滑膜組織および関節液を分離した。
- 3) 組織学的検索：ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行い光学顕微鏡下で観察した。
- 4) 関節液の性状検査：関節液の pH、比重およびタンパク質濃度は常法によって評価した。関節液細胞は好中球、リンパ球、マクロファージおよび滑膜細胞に分類した。
- 5) 免疫関連遺伝子発現の評価：関節液の細胞および滑膜組織は RNeasy lysis 溶液に浸漬後-30°C で保管した。関節液の細胞および滑膜組織からの Total RNA 抽出および逆転写 PCR を行った。
- 6) Quantitative RT-PCR(qRT-PCR)解析：合成した cDNA の mRNA 発現量は、Thunderbird SYBR qPCR mix と CFX Connect Real-time system を用い 既報に準じて解析した。
- 7) ウェスタンブロット解析
関節液を 0.5 μ l/lane で 10%アクリルアミドゲルにアプライし、SDS/PAGE にてタンパク質を分離した。その後、タンパク質をイモビロンメンブレンに転写し、目的とするタンパク質の抗体により検出した。
- 8) Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay(ELISA)
関節液の サイトカインは ELISA kit を用いて測定した。
- 9) 統計処理：結果は平均値 \pm 標準誤差で記載した。健康な子牛とマイコプラズマ関節炎罹患子牛の 2 群間比較検定は Mann-Whitney の U 検定を実施した。

② *M. bovis* の実験感染牛における病態および免疫学的解明

- 1) ①と同様の方法にて解析をおこなった。

③白血球による滑膜細胞の機能制御

- 1) 菌液調整：*M. bovis*(PG45 株：ATCC 25523)、*M. arginini*(ATCC23838) および *M. californicum*(ATCC33461)はマイコプラズマ液体培地に接種し 37°C で 48 時間培養した。その後、マイコプラズマ寒天培地に播種して 37°C5%CO₂ 下で 5 日間培養し菌数を算出した。菌液は-80°C で保管した。*M. bovis* の死菌は 70°C で 5 分間の熱処理と 0.5%ホルマリン PBS で 24 時間反応。
- 2) 滑膜細胞の分離および培養：滑膜細胞の分離および培養法は Haerdi-Landerer らの手法に準拠して実施した。本学附属動物医療センターで安楽殺された臨床的に健康なホルスタイン種子牛(1-3 か月齢)の手根関節から滑膜組織を切り出し、抗生物質を添加した PBS で洗浄した。組織は typeI コラゲナーゼを 5 mg/ml の濃度で添加した D-MEM に 37°C5%CO₂ 下で 1 時間浸漬し、結合組織を分解した。10%ウシ胎児血清加 D-MEM を 2ml 分注した Collagen

TypeI Coated Dish に組織片 を移し、メス刃で滑膜細胞を削ぎ落とし、37°5%CO₂ 下で細胞を培養 した。サブコンフルエントになった滑膜細胞は 0.25%トリプシン EDTA で剥離し 3 度継代した後に試験に供した。サブコンフルエントまで培養した滑膜細胞に *M. bovis*(生菌および死菌)、*M. arginin* (生菌)および *M. californicum* (生菌)を感染多重 度(Multiplicity of infection: MOI)0.1、10 および 1000 で添加し、37°C 5%CO₂ 下で 24、48 および 72 時間培養した。

- 3)末梢血単核球(PBMCs)の分離および培養：酪農学園フィールド教育研究センターで飼養されている 臨床的に健康な初産泌乳中期のホルスタイン種雌ウシ 5 頭を供した。ヘパリンナトリウム加真空採血管に末梢血液を採取し、既報の手順に従い比重遠心法により単核球を分離した。
- 4)リコンビナントウシ(rb)IL-18 添加試験：rbIL-18 は 10ng/ml で滑膜細胞に添加し 37°C 5%CO₂ 下で 24、48 および 72 時間培養した。
- 5)細胞増殖能の測定
滑膜細胞を Collagen TypeI Coated 96well Dish に播種し 24 時間培養後に培地を捨て浮遊細胞を除去した。その後 PBS で洗浄し、10%FBS 加 D-MEM を添加した。各マイコプラズマ属菌を添加し 24、48 および 72 時間培養後に Cell Counting Kit-8 を添加しマイクロプレートリーダー(450nm)にて吸光値を測定した。
- 7)細胞生存率およびアポトーシスの測定 各マイコプラズマ属菌を滑膜細胞に添加し、一定時間培養後に Muse Cell Analyzer(MERCK Millipore、米国)および Annexin V & Dead Cell Kit を用いて 2×10^3 個の細胞を解析し細胞生存率およびアポトーシス率を測定した。
- 8)qRT-PCR 解析
滑膜細胞および PBMCs は RNAlater 溶液で処理し-30°C で保管した。qRT-PCR は Thunderbird SYBR qPCR mix と CFX Connect Real-time system を用いて解析した。各マイコプラズマ属菌、PBMCs-secretome および rbIL-18 で刺激した細胞の mRNA 発現量の相対値はコントロールの発現量を基準とし、 $\Delta\Delta Ct$ 法を用いて算出した。mRNA 発現量の補正にハウスキーピング因子: β -actin、YWHAZ および GAPDH を用いた。
- 9)フローサイトメトリー解析：未刺激の滑膜細胞、*M. bovis*、PBMCs-secretome および rbIL-18 で刺激した滑膜細胞は 0.1%パラホルムアルデヒドで 10 分間固定し、次に 0.1%Tween20 で 10 分間の透過処理を行った。滑膜細胞は抗 MMP-3 抗体で室温 1 時間染色し、その後 Alexa Fluor 488 標識抗ウサギ IgG 抗体で室温 30 分間染色した。細胞は PBS で洗浄され、1%ホルマリン PBS で固定した。細胞の蛍光強度は BD FACS Verse にて 10^4 個の細胞を解析し測定した。
- 10) ELISA：PBMCs-secretome の IL-18 濃度は IL-18ELISA kit を用いて測定した。
- 11)統計処理：結果は平均値 \pm 標準誤差で記載した。多重比較検定は Steel 法および Steel-Dwass 検定を用いて行い、2 群間の比較検定は Mann-Whitney の U 検定を実施した。

④ *M. bovis* の滑膜細胞侵入性と免疫回避機構の解明

- 1)菌液調整：③-1)
- 2)滑膜細胞の培養：③-2)
- 3)ゲンタマイシンアッセイ：35mm Collagen Type I Coated Dish でサブコンフルエントまで培養した滑膜細胞に *M. bovis* を 5×10^4 CFU/well で添加し 37°C 5%CO₂ 下で 3 時間培養した(図 21)。培養後、細胞培養液 を除去し 400 μ g/ml のゲンタマイシン溶液(Sigma-Aldrich、米国)を添加し 37°C 5%CO₂ 下で 3 時間培養した。
- 4)エンドサイトーシス阻害薬を用いた経路抑制試験：ダンシルカダベリンおよびシンバスタチンはクラスリンおよびカベオラ依存性エンドサイトーシスの阻害薬として使用した。阻害薬未処理の細胞に内在する *M. bovis* の数を基準として、各阻害薬処理後に細胞に内在する *M. bovis* の割合を算出した。
- 5)Small interfering RNA(siRNA)によるエンドサイトーシス関連因子のタンパク質発現抑制試験(Knock down)：Clathrin heavy chain(CLTC:5' CGAGGUUGCUUGAGAUGAA 3')と Caveolin-1(Cave:5' AGUACUGGUUUUACCGUUU 3')に対する siRNA およびネガティブコントロール siRNA はニッポンジーンにて 設計および合成した。
- 6)ウェスタンブロット解析：siRNA を導入した滑膜細胞は RIPA Buffer(和光純薬、大阪)で溶解し SDS/PAGE にてタンパク質を分離した。その後、タンパク質をイモビロンメンブレンに転写し、抗 Clathrin heavy chain 抗体、抗 Caveolin-1 抗体および抗 GAPDH 抗体を添加し室温で 2 時間反応させた。
- 7)蛍光顕微鏡を用いた形態学的解析：抗 *M. bovis* 抗体、抗 Vimentin 抗体、抗 Clathrin heavy chain 抗体および抗 Caveolin-1 抗体を添加し室温で 2 時間反応させた。その後、Alexa Fluor 488 標識抗ウサギ IgG 抗体と Rhodamine 標識抗マウス IgG 抗体を添加し遮光下で室温 1 時間反応させた。DAPI solution で比染色を行い Fluoromount を用いてスライドガラスに封入した。染色細胞は FSX 100 蛍光顕微鏡および LSM5 pascal 共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。得られた画像は Image J software(version 1.51)にて解析 した。1 細胞あたりに付着および侵入した *M. bovis* と Clathrin heavy chain および Caveolin-1 に共局在する *M. bovis* の数を測定した。

- 8)フローサイトメトリー解析：エンドサイトーシス阻害薬で処理した滑膜細胞は 0.25% trypsin-EDTA で回収し 1 % formaldehyde fixation buffer で懸濁した。細胞の蛍光強度は BD FACSVerse にて 10^4 個の細胞を解析しヒストグラムに描出した。
- 9)電子顕微鏡を用いた形態学的解：常法に従い実施した。
- 10)統計処理：多重比較検定は Steel-Dwass 検定を用いて行い、2 群間の比較検定は Mann-Whitney の U 検定を実施した。

4. 研究成果

①マイコプラズマ性関節炎自然発症例における病態解明および免疫学的解明

マイコプラズマ性関節炎自然発症例における主たる病態は、関節液の白濁および増量、骨表面（軟骨）の融解・壊死であった。関節液の特徴として罹患により pH の減少、比重の上昇、細胞数の増加、タンパク質濃度の上昇が認められた。また、滑膜組織にマイコプラズマ感染症に特徴的な凝固壊死巣（乾酪壊死巣）が確認された。

マイコプラズマ性関節炎自然発症例の関節液において、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12 および IL-17、軟骨基質分解酵素である MMP-1 および MMP-3 が検出され、滑膜組織ではこれらサイトカインの mRNA 発現増強を確認した。

以上の結果より、マイコプラズマ性関節炎では関節組織で激しい炎症応答が惹起されており、それらは、主として炎症性サイトカインおよび MMP などの基質分解酵素によるものであることが示唆された。

②*M. bovis* の実験感染牛における病態および免疫学的解明

M. bovis 接種群では、病理学的および画像学的所見より、接種部位の腫脹、関節液の増量、滑膜の菲薄化を認めた（図 1）。接種された *M. bovis* はマクロファージおよび滑膜細胞内に局在することが認められた。また、関節液では pH の低下、比重上昇、タンパク質濃度上昇および細胞数増加を認めた。*M. bovis* 接種群の関節液細胞および滑膜組織における IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12 および IL-17 の mRNA 発現量は対照群と比較して有意に高値を示した。これらのサイトカイン（タンパク質）は関節液でも増加することを確認した。

以上の結果より、*M. bovis* 接種により誘導される病態および免疫学的特徴は、自然発生のそれと同様であり、関節内の激しい炎症応答に起因することが明らかになった。

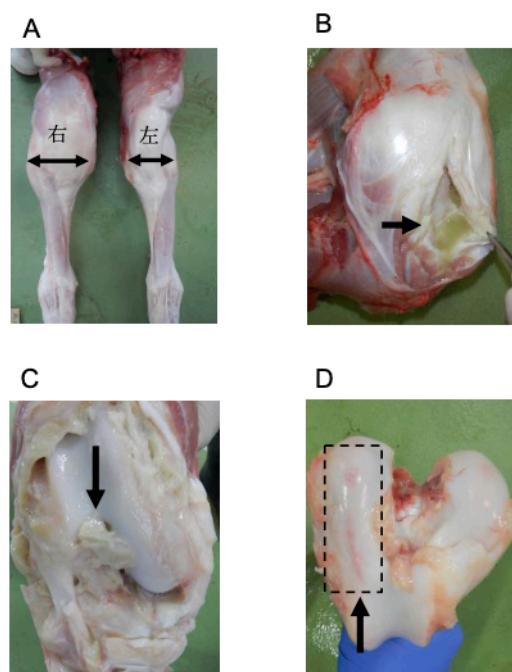


図 1 *M. bovis* 接種群の病理学的所見(A:右膝関節の腫脹、B:関節液の増量、C:フィブリン析出、D:軟骨の菲薄化)

③白血球による滑膜細胞の機能制御

滑膜細胞に対する *M. bovis* の直接刺激によって炎症性サイトカイン、MMP-1 および 3 の mRNA 発現量が有意に増加し、さらに *M. bovis* で刺激した PBMCs の培養上清 (PBMCs-secretome) 添加により、さらに強い mRNA の発現が誘導された（図 2）。PBMCs-secretome

の添加は *M. bovis* 直接刺激よりも滑膜細胞の MMP-3 産生能を著しく増加させた。

PBMCs-secretome には高濃度の IL-1 β が含まれていることが明らかになった。rbIL-1 β が滑膜細胞の MMP-3 発現を誘導したことから、生体でも IL-1 β が主たるサイトカインとして滑膜細胞の MMP-3 を誘導し軟骨の破壊を引き起こすことが明らかになった。

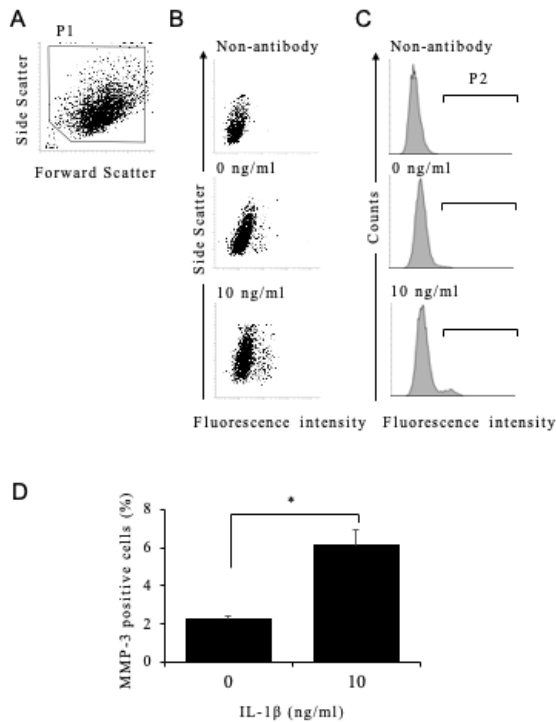


図2 rb-IL1- β 刺激したにおける滑膜細胞の MMP3 産生能

④ *M. bovis* の滑膜細胞侵入性と免疫回避機構の解明

M. bovis (生菌) は短時間 (15 分程度) で滑膜細胞に付着または侵入することが確認された (図3)。また、熱またはホルマリンで死菌処理した *M. bovis* (死菌) は滑膜細胞への付着または侵入は認められなかった。クラスリン依存性エンドサイトーシスに関連する Clathrin heavy chain と *M. bovis* の共局在が観察された。これらはクラスリン依存性エンドサイトーシスの阻害薬で処理された滑膜細胞および Clathrin heavy chain を siRNA でノックダウンした細胞では、内在する *M. bovis* の数は対照と比較して有意に減少した。以上のことより、*M. bovis* は運動性を有さず能動的な細胞内侵入は行わないものの、滑膜細胞のエンドサイトーシス機構を制御し、自身の細胞内侵入 (滑膜細胞による取り込み) を可能にしていることが示唆された。

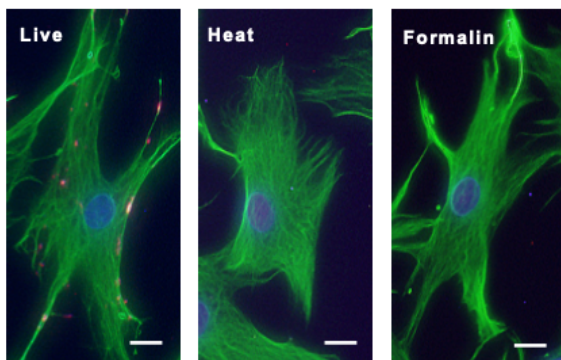


図3 熱およびホルマリン処理された *M. bovis* の滑膜細胞に対する 付着および侵入性(蛍光顕微鏡下の観察像、緑:Vimentin、赤:*M. bovis*、青:核、スケール:21 μ m、N=4、)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8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 Koji NISHI, Satoshi GONDAIRA, Mariko OKAMOTO, Kazuya MATSUDA, Ayano SATO, Toshihide KATO, Misawa SASAGAWA, Takahiro TANAK and Hidetoshi HIGUCHI*	4. 巻 83
2. 論文標題 Inflammatory cytokine mRNA and protein levels in the synovial fluid of Mycoplasma arthritis calves	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 31-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0491. Epub 2021 Jan 8.	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 Koji Nishi, Yuki Hirano, Ayano Sato, Ayako Eguchi, Kazuya Matsuda, Miyuki Toda, Takafumi Watanabe, Tomohito Iwasaki, Naoki Takahashi, Marina Hosotani, Reina Watanabe, Toshihide Kato, Hiromichi Ohtsuka, Satoshi Gondaira, *,Hidetoshi Higuchia,*	4. 巻 244
2. 論文標題 Effects of intra-articular inoculation with Mycoplasma bovis on immunological responses in calf joints	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Veterinary Immunology and Immunopathology	6. 最初と最後の頁 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetimm.2021.110364.	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 Gondaira Satoshi, Nishi Koji, Iwano Hidetomo, Fujiki Jumpei, Watanabe Reina, Eguchi Ayako, Hirano Yuki, Higuchi Hidetoshi, Nagahata Hajime	4. 巻 232
2. 論文標題 Transcriptome analysis of Mycoplasma bovis stimulated bovine peripheral blood mononuclear cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Veterinary Immunology and Immunopathology	6. 最初と最後の頁 110166 ~ 110166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetimm.2020.110166	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 Nishi Koji, Gondaira Satoshi, Fujiki Jumpei, Katagata Michiko, Sawada Chizuru, Eguchi Ayako, Iwasaki Tomohito, Iwano Hidetomo, Higuchi Hidetoshi	4. 巻 253
2. 論文標題 Invasion of Mycoplasma bovis into bovine synovial cells utilizing the clathrin-dependent endocytosis pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Veterinary Microbiology	6. 最初と最後の頁 108956 ~ 108956
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetmic.2020.108956	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 Sajiki Yamato, Konnai Satoru, Goto Shinya, Okagawa Tomohiro, Ohira Kosuke, Shimakura Honami, Maekawa Naoya, Gondaira Satoshi, Higuchi Hidetoshi, Tajima Motoshi, Hirano Yuki, Kohara Junko, Murata Shiro, Ohashi Kazuhiko	4. 巻 7
2. 論文標題 The Suppression of Th1 Response by Inducing TGF- 1 From Regulatory T Cells in Bovine Mycoplasmosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Veterinary Science	6. 最初と最後の頁 2564-2569
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fvets.2020.609443	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 Nishi Koji, Gondaira Satoshi, Okamoto Mariko, Watanabe Reina, Hirano Yuki, Fujiki Jumpei, Iwano Hidetomo, Higuchi Hidetoshi	4. 巻 227
2. 論文標題 Mycoplasma bovis induces matrix metalloproteinase-3 expression in bovine synovial cells via up-regulation of interleukin-1 expression in mononuclear cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Veterinary Immunology and Immunopathology	6. 最初と最後の頁 110057 ~ 110057
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetimm.2020.110057	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 Goto Shinya, K, Gondaira Satoshi, Higuchi Hidetoshi, Ohashi Kazuhiko	4. 巻 7
2. 論文標題 Upregulation of PD-L1 Expression by Prostaglandin E2 and the Enhancement of IFN- by Anti-PD-L1 Antibody Combined With a COX-2 Inhibitor in Mycoplasma bovis Infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Veterinary Science	6. 最初と最後の頁 3245-3250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fvets.2020.00012	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 Fujimoto Yuri, Ito Hirotaka, Higuchi Hidetoshi, Ohno Hiroshi, Makita Kohei	4. 巻 177
2. 論文標題 A case-control study of herd- and cow-level risk factors associated with an outbreak of Mycoplasma mastitis in Nemuro, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Preventive Veterinary Medicine	6. 最初と最後の頁 104946 ~ 104946
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.prevetmed.2020.104946	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西航司、権平 智、岩崎智仁、渡部敬文、藤木純平、岩野英知、樋口豪紀
2. 発表標題 ウシ関節組織におけるMycoplasma bovisの細胞侵入機構とその制御
3. 学会等名 日本細菌学会
4. 発表年 2020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	藤木 純平 (Fujiki Junpei) (30805114)	酪農学園大学・獣医学群・講師 (30109)	
研究分担者	岩野 英知 (Iwano Hidetomo) (60382488)	酪農学園大学・獣医学群・教授 (30109)	
研究分担者	権平 智 (Gondaira Satoshi) (80795089)	酪農学園大学・獣医学群・講師 (30109)	

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