

令和 4 年 9 月 2 日現在

機関番号：32822

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08308

研究課題名(和文) 心臓流出路形態形成についての包括的検討

研究課題名(英文) Comprehensive research in morphogenesis of the cardiac outflow tract

研究代表者

富田 幸子 (Miyagawa-Tomita, Sachiko)

ヤマザキ動物看護大学・動物看護学部・教授

研究者番号：40231451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：心臓流出路は心筋と血管をつなぐ領域で、この部位の異常は先天性心疾患の中で最も頻度が高い。心臓流出路を形成する細胞は二次心臓領域細胞、心臓神経堤細胞(後耳胞神経堤細胞)、前耳胞神経堤細胞、原羊膜壁側中胚葉、心外膜前駆細胞などある。本研究では胎生期の心臓流出路の形態形成過程を3次元的に捉え全体像を明らかにするシステムを構築することである。神経堤マーカーWnt-1-Creマウスでの大動脈弁、肺動脈弁での神経堤細胞の分布を確認した。さらにニワトリキメラ胚で後耳胞および前耳胞神経堤細胞は大動脈弁、肺動脈弁で分布に違いのあることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先天性心疾患の発生原因、形態形成、治療および修復術の向上のためには発生過程における心臓形成の解析が有力な情報となる。先天性心臓疾患の中で最も異常が多く見られるのは心臓流出路である。心臓流出路は様々な由来領域から派生する細胞で構成され、二次心臓領域細胞、心臓神経堤細胞(後耳胞神経堤細胞)、前耳胞神経堤細胞、原羊膜壁側中胚葉、心外膜前駆細胞などある。本研究により後耳胞神経堤細胞が大動脈弁と肺動脈弁に分布するという事実は、弁の石灰化を考える上で重要な要素となり得、また発生の初期に出現する原羊膜壁側中胚葉が心臓に侵入し甲状腺の血管網にも関与していることは血管形成の研究分野に重要な情報を示すものである。

研究成果の概要(英文)：The cardiac outflow tract is the region that connects the myocardium to the blood vessels, and abnormalities in this region are most frequent in congenital heart disease. The cells forming the cardiac outflow tract include second heart field derived cells, cardiac neural crest cells(postotic nccs), preotic nccs, intra-embryonic amniogenic somatopleural mesodermal cells, and epicardial progenitor cells. The purpose of this study is to construct a system to capture the morphogenetic process of the cardiac outflow tract during development in three dimensions and to elucidate the entire picture. We confirmed the distribution of nccs in the aortic and pulmonary valves in the neural crest marker Wnt-1-Cre mice. Furthermore, we found that the distribution of preotic and postotic nccs in the aortic and pulmonary valves differed in the chick chimera embryos.

研究分野：心臓発生学

キーワード：神経堤細胞 心臓 形態 弁 血管

1. 研究開始当初の背景

心臓流出路は心筋と血管をつなぐ領域で、この部位の形態異常は先天性心疾患の中で最も頻度が高い。心臓流出路は、二次心臓領域細胞、心臓神経堤細胞（後耳胞神経堤細胞）、前耳胞神経堤細胞、原羊膜壁側中胚葉、心外膜前駆細胞などの様々な由来細胞からなり、心筋細胞や血管内皮細胞をつないでいる部位である。従来、鳥類神経堤細胞は冠血管形成に関与しないと報告されていたが、我々が見出した細胞集団（Nature Commun 2012, Arima et al.）である前耳胞神経堤細胞は冠血管形成、特に心臓の中隔枝に関与していることが明らかとなった。これはマウス研究とも一致した結果でエンドセリンシグナルとの関連が示唆された。また、原羊膜壁側中胚葉は心臓流出路の形成にも関わることを報告した（Scientific Reports 2017, Asai et al.）しかし、未だその流出路異常形成過程は明らかにされておらず、また生体内での流出路正常発生過程も十分に理解されるには至っていない。本研究では、心臓流出路における形態発達の形成過程を包括的に3次元で捉え全体像を明らかにし異常の原因を究明する。

2. 研究の目的

本研究では原羊膜壁側中胚葉細胞、神経堤細胞の心臓流出路におけるシングルセル解析、各細胞間の相互関係、ex vivo による分化誘導を実施して分子メカニズム、後耳胞と前耳胞神経堤移植ウズラ-ニワトリキメラでの流出路分布を検討し、心臓流出路における形態発達の形成過程を包括的に3次元で捉え全体像を明らかにし、異常の原因を究明する。

3. 研究の方法

次の3つの方法で研究を実施した。(1) 発生期心臓に流入する神経堤細胞及び原羊膜壁側中胚葉細胞の単一細胞トランスクリプトーム解析。ステージ10のニワトリ胚を実験に用いた。

(2) ウズラ-ニワトリ間の同所キメラ移植(後耳胞(心臓)神経堤細胞、前耳胞神経堤細胞、または原羊膜壁側中胚葉細胞を移植)による細胞系譜の追跡。ウズラ胚からニワトリ胚へ後耳胞(心臓)神経堤細胞、前耳胞神経堤、または原羊膜壁側中胚葉細胞を移植して各細胞を検討した。

(3) (2)のスライド染色サンプルを用いて3D Amira 解析を実施した。

(4) in vitro 培養による分化誘導実験。原羊膜壁側細胞(外胚葉と中胚葉を含む)を野生型ウズラ胚またはウズラ胚から取り出し、培養ディッシュに培養したあと、ステージ30または35のニワトリ胚の甲状腺、副甲状腺、胸腺を取り出し一緒に培養した。これらにL-thyroxine、bFGF、VEGFを添加培養し観察した。

4. 研究成果

発生期心臓に流入する神経堤細胞及び原羊膜壁側中胚葉細胞の単一細胞トランスクリプトーム解析、ウズラ-ニワトリ間の同所キメラ移植による細胞系譜追跡などにより①マウス胎生期の心臓流出路において、神経堤細胞は初期に骨格系前駆細胞様の表現型を示し、冠動脈や大動脈平滑筋細胞、大動脈肺動脈弁の間質細胞など多様な細胞に分化することが明らかになった。②心臓内の神経堤細胞の分化過程に関与する転写因子ネットワークが示唆された。③羊膜を形成する壁側中胚葉にはヘマンジオプラスト様の心血管系前駆細胞が含まれ、胚内に流入して心臓流出路などからのシグナル分子により心筋や血管内皮に分化することが示された。ウズラ-ニワトリ原羊膜壁側中胚葉移植キメラ胚の解析によりこれら細胞は、鰓弓から心臓にかけて広範囲に分布し、特に鰓弓では甲状腺内の血管にも分布していた。原羊膜壁側中胚葉細胞は、心筋細胞、平滑筋細胞、心臓間質細胞、血管内皮細

胞など様々な細胞に分化し、in vitro培養でFGFとVEGFシグナルが血管内皮細胞への分化を促進していることが示唆された。また、このキメラ胚を利用して原羊膜と胚内に移行した原羊膜由来細胞のシングルセル RNAseq 解析を行ったところ、ヘテロジェネイティを認め、ヘモアンジオブラスト様細胞集団を認めた。In vitro解析結果も合わせると原羊膜壁側中胚葉細胞でFGFからVEGFへのスイッチが起こり甲状腺内で血管を形成することが示唆された。

神経堤マーカーWnt1-CreマウスのWnt-1陽性神経堤マーカーを指標に、鳥類キメラ胚の神経堤細胞の分布を半月弁で比較検討した。ウズラ後耳胞または、前耳胞神経堤を移植したウズラ-ニワトリ神経堤キメラ胚を作成した。マウスではWnt1 陽性神経堤細胞は半月弁、すなわち大動脈弁、肺動脈弁のnon coronary 弁以外の2弁に全体に多く分布していた。non coronary 弁に分布する量は他2弁に比べて少ない。一方、鳥類では前耳胞神経堤は大動脈弁、肺動脈弁の3弁に全体に分布を認めたが、後耳胞神経堤細胞は左大動脈弁にのみ分布し、肺動脈弁3弁に全体に分布を認めた。前耳胞神経堤細胞は、大動脈弁3弁に非常に多く分布していた。肺動脈弁3弁にも分布がみられたが大動脈弁ほど分布は多くなかった。これらデータをAmiraソフトで3次元立体構築して確認した。すなわちWnt1-Creマウスと鳥類キメラ胚で半月弁における神経堤細胞の分布の違いを認めた。この違いを考察すると、神経堤細胞を分子マーカーとするマウスにWnt1-CreマウスとPO-Creマウスに理由があるかもしれない (Genesis 2017, Chen et al)。両者とも神経堤細胞をマークするが、マークが一致する部位もあるが不一致の部位もあり、両者のマーカーマウスがすべての神経堤細胞をマークしているわけではないと考えられる。大動脈2尖弁や大動脈弁石灰化を誘導する因子はヒトで報告され、そのノックアウトマウスも作成されているが、マウスでは大動脈2尖弁や石灰化の異常発現は少ない。これらは神経堤細胞が原因で引き起こされる可能性があり、今後、流出路における神経堤細胞の単一細胞トランスクリプトーム解析やVisiumによる解析を実施し詳細に検討するべきと考えられる。

<引用文献>

†Arima Y, †Miyagawa-Tomita S, Maeda K, Asai R, Seya D, Minoux M, Rijli G, Nishiyama K, Kim KS, Uchijima Y, Ogawa H, Kurihara Y, Kurihara H. Preotic neural crest cells contribute to coronary artery smooth muscle involving endothelin signalling. *Nat Commun*, 2012;3:1267 DOI:10.1038:1-11.

Asai R, Haneda Y, Seya D, Arima Y, Fukuda K, Kurihara Y, Miyagawa-Tomita S*, Kurihara H*. Amniogenic somatopleure: a novel origin of multiple cell lineages contributing to the cardiovascular system. *Scientific Reports* 2017;7(1):8955. doi: 10.1038/s41598-017-08305-2

Guiqian Chen, Mohamed Ishan, Jingwen Yang, Satoshi Kishigami, Tomokazu Fukuda, Greg Scott, Manas K. Ray, Chenming Sun, Shi-You Chen, Yoshihiro Komatsu, Yuji Mishina, Hong-Xiang Liu. Specific and spatial labeling of PO-Cre versus Wnt1-Cre in cranial neural crest in early mouse embryos. *Genesis*. 2017;55:e23034. DOI: 10.1002/dvg.23034

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kazuaki Maruyama, Kazuaki Naemura, Kenji Yoshihara, Kyoko Imanaka-Yoshida, Hiroki Kurihara, Sachiko Miyagawa-Tomita	4. 巻 2
2. 論文標題 Surgical protocol for permanent ligation of the left anterior descending coronary artery in mice to generate a model of myocardial infarction.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 STAR Protoc	6. 最初と最後の頁 100775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2021.100775	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 Kazuaki Maruyama, Kazuaki Naemura, Yuichiro Arima, Yasunobu Uchijima, Hiroaki Nagao, Kenji Yoshihara, Manvendra K. Singh, Akiyoshi Uemura, Fumio Matsuzaki, Yutaka Yoshida, Yukiko Kurihara, Sachiko Miyagawa-Tomita, and Hiroki Kurihara.	4. 巻 24
2. 論文標題 Semaphorin3E-PlaxinD1 signaling in coronary artery and lymphatic vessel development with clinical implications in myocardial recovery.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102305	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 Kazuki Yasuhiro, Gao Feng J, Li Yicong, Moyer Anna J, Devenney Benjamin, Hiramatsu Kei, Miyagawa-Tomita Sachiko, et al.	4. 巻 9
2. 論文標題 A non-mosaic transchromosomal mouse model of Down syndrome carrying the long arm of human chromosome 21	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 1-29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.56223.	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 該当する

1. 著者名 Takahara S, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Matsuura K, Nakashima Y, Niihori T, Matsubara Y, Saiki Y, Aoki Y.	4. 巻 42
2. 論文標題 New Noonan syndrome model mice with RIT1 mutation exhibit cardiac hypertrophy and susceptibility to α -adrenergic stimulation-induced cardiac fibrosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EBioMedicine.	6. 最初と最後の頁 43-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2019.03.014.	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 Maruyama K, Miyagawa-Tomita S, Mizukami K, Matsuzaki F, Kurihara H.	4. 巻 452
2. 論文標題 Isl1-expressing non-venous cell lineage contributes to cardiac lymphatic vessel development.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dev Biol	6. 最初と最後の頁 134-143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2019.05.002.	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23件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 宮川-富田幸子
2. 発表標題 心臓刺激伝導系の発生
3. 学会等名 第33回九州小児不整脈研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮川-富田幸子
2. 発表標題 ヤマザキ動物看護大学における特徴的な教育の取り組み
3. 学会等名 第30回日本動物看護学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮川-富田幸子
2. 発表標題 冠動脈・心臓刺激伝導系の発生 (9)
3. 学会等名 日本小児循環器学会 第12回教育セミナー-Advanced Course. (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩瀬晃康, 内島泰信, 瀬谷大貴, 来田真友子, 東山大毅, 松居一悠, 田口明糸, 山本尚吾, 福田史朗, 野村征太郎, 興梠貴英, 宿南知佐, 関真秀, 鈴木穰, 和田洋一郎, 油谷浩幸, 栗原由紀子, 宮川-富田幸子, 栗原裕基
2. 発表標題 単一細胞・空間遺伝子発現解析による心臓内神経堤細胞の分化運命決定
3. 学会等名 第38回国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木孝典, 宮川-富田幸子
2. 発表標題 冠動脈瘤の精査により先天性右冠動脈開口部閉鎖、冠動脈左室瘻の診断にいたった1例
3. 学会等名 第20回日本心臓血管発生研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山和晃, 今中-吉田恭子, 宮川-富田幸子, 栗原裕基, 来田真友子, 羽田優花
2. 発表標題 新規リンパ管内皮細胞起源の同定
3. 学会等名 第20回日本心臓血管発生研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 来田 真友子, 岩瀬 晃康, 宮川-富田 幸子, 栗原 裕基.
2. 発表標題 4. 胚組織に寄与する原羊膜由来細胞の分化機構の解明
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩瀬晃康, 内島泰信, 瀬谷大貴, 来田真友子, 東山大毅, 松居一悠, 田口明糸, 山本尚吾, 福田史朗, 野村征太郎, 興梠貴英, 宿南知佐, 関真秀, 鈴木穰, 和田洋一郎, 油谷浩幸, 栗原由紀子, 宮川-富田幸子, 栗原裕基
2. 発表標題 Differentiation fate decision of intracardiac neural crest cells revealed by single cell and spatial transcriptome analysis.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木孝典, 齋藤和由, 吉川哲史, 伊藤諒一, 内田英利, 大島康徳, 鬼頭真知子, 森鼻栄治, 河井 悟, 安田和志, 宮川-富田幸子
2. 発表標題 冠動脈瘤の精査により先天性右冠動脈開口部閉鎖、冠動脈左室瘻の診断にいたった1例
3. 学会等名 第57回日本小児循環器学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮川-富田幸子
2. 発表標題 冠動脈・心臓刺激伝導系の発生
3. 学会等名 日本小児循環器学会第12回教育セミナー-Advanced Course. (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akiyasu Iwase, Yasunobu Uchijima, Daiki Seya, Akashi Taguchi, Takahide Kohro, Youichiro Wada, Hiroyuki Aburatani, Chisa Shukunami, Sachiko Miyagawa-Tomita, Hiroki Kurihara.
2. 発表標題 Transition of heterogenic differentiation fate of intracardiac neural crest cells detected by single cell RNA-seq analysis.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuka Haneda, Sachiko Miyagawa-Tomita, Yasunobu Uchijima, Akiyasu Iwase, Rieko Asai, Takahide Kohro, Youichiro Wada, Hiroki Kurihara.
2. 発表標題 Analysis of the differentiation process of intra-embryonic amniogenic somatopleure cell.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 来田真友子、岩瀬晃康、宮川-富田幸子、栗原裕基.
2. 発表標題 Spatiotemporal distribution of macrophages and relationship with neural crest cells in cardiac development.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩瀬晃康, 内島泰信, 瀬谷大貴, 来田真友子, 東山大毅, 松居一悠, 田口明糸, 山本尚吾, 福田史朗, 野村征太郎, 興梠貴英, 宿南知佐, 関真秀, 鈴木穰, 和田洋一郎, 油谷浩幸, 栗原由紀子, 宮川-富田幸子, 栗原裕基.
2. 発表標題 Heterogeneity and regionality of intracardiac neural crest cells revealed by single cell and spatial transcriptome analysis. (空間的/シングルセル遺伝子発現情報統合解析が示す心臓内神経堤細胞の多様性と領域性)
3. 学会等名 第19回日本心臓血管発生研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上晋一, 高原真吾, 宮川-富田幸子, 松浦勝久, 中島八隅, 新堀哲也, 松原洋一, 齋木佳克, 青木洋子
2. 発表標題 RASサブファミリータンパク質RIT1ノックインマウスにおける心疾患病態解析.
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 羽田優花, 宮川-富田幸子, 浅井理恵子, 内島泰信, 田口明糸, 山本尚吾, 福田史朗, 興梠貴英, 和田洋一郎, 栗原裕基
2. 発表標題 原羊膜由来細胞の胚組織形成における役割とその分化機構の解明-甲状腺血管への寄与に着目して-
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 Yuka Haneda, Sachiko Miyagawa-Tomita, Rieko Asai, Yasunobu Uchijima, Akashi Taguchi, Shogo Yamamoto, Shiro Fukuda, Takahide Kohro, Youichiro Wada, Hiroki Kurihara.
2. 発表標題 Analysis of the role and differentiation process of intra-embryonic amniogenic somatopleure cells.
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 来田まゆ子, 宮川-富田幸子, 栗原裕基.
2. 発表標題 心臓発生におけるマクロファージの時空間的分布と機能の探索
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 岩瀬晃康, 内島泰信, 瀬谷大貴, 松居一悠, 田口明糸, 山本尚吾, 福田史朗, 野村征太郎, 興梠貴英, 和田洋一郎, 油谷浩幸, 宮川-富田-幸子, 栗原裕基
2. 発表標題 単一細胞遺伝子発現解析が示す心臓内神経堤細胞の分化運命の変遷
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩瀬 晃康 , 内島 泰信 , 瀬谷 大貴 , 松居 一悠 , 田口 明糸 , 山本 尚吾 , 福田 史朗 , 野村 征太郎 , 興梠 貴英 , 和田 洋一郎 , 油谷 浩幸 , 宮川 - 富田 幸子, 栗原 裕基
2. 発表標題 単一細胞遺伝子発現解析が示す心臓内神経堤細胞の分化運命の変遷
3. 学会等名 シングルセルゲノミクス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩瀬 晃康 , 内島 泰信 , 瀬谷 大貴 , 松居 一悠 , 田口 明糸 , 山本 尚吾 , 福田 史朗 , 野村 征太郎 , 興梠 貴英 , 和田 洋一郎 , 油谷 浩幸 , 宮川 - 富田 幸子, 栗原 裕基
2. 発表標題 単一細胞遺伝子発現解析で捉える心臓内神経堤細胞の分化多様性とその変遷
3. 学会等名 第27回日本血管生物医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 羽田 優花, 浅井 理恵子, 内島 泰信, 田口 明糸, 山本 尚吾, 福田 史朗, 興梠 貴英, 和田 洋一郎, 宮川-富田 幸子, 栗原 裕基
2. 発表標題 原羊膜由来細胞の胚組織形成における役割とその分化機構の解明
3. 学会等名 第18回日本心臓血管発生研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩瀬 晃康 , 内島 泰信 , 瀬谷 大貴 , 松居 一悠 , 田口 明糸 , 山本 尚吾 , 福田 史朗 , 野村 征太郎 , 興梠 貴英 , 和田 洋一郎 , 油谷 浩幸 , 宮川 - 富田 幸子, 栗原 裕基
2. 発表標題 single cell RNA-seq解析によって捉えた心臓内神経堤細胞の多様な分化運命の変遷
3. 学会等名 第18回日本心臓血管発生研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 (分担執筆) 宮川-富田幸子、浅井理恵子(山岸・白石(編))	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 323 (p.81-83)
3. 書名 新 先天性心疾患を理解するための臨床心臓発生学	

1. 著者名 今中-吉田恭子、宮川-富田幸子(山岸・白石(編))	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 323 (p.231-233)
3. 書名 新 先天性心疾患を理解するための臨床心臓発生学(冠動脈の発生とその異常)	

1. 著者名 宮川-富田幸子、浅井理恵子(山岸・白石(編))	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 323 (p.261-268)
3. 書名 新 先天性心疾患を理解するための臨床心臓発生学(心臓刺激伝導系の発生とその異常)	

〔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	栗原 裕基 (Kurihara Hiroki) (20221947)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授 (12601)	

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