

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22487

研究課題名(和文) 内因性代謝物の血中濃度恒常性を制御する肝臓機能を記述する数理モデルの構築

研究課題名(英文) Development of mathematical models to describe hepatic metabolic reactions to maintain homeostasis of endogenous metabolites

研究代表者

鈴木 洋史 (Suzuki, Hiroshi)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：80206523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：近年、ヒトの代謝反応に関する膨大な既知情報を統合した、ゲノムスケールの代謝ネットワークモデルが構築され、利用可能となっている。また、疾患発症などに伴う状態変化を包括的に捉えた実測データとしては、患者と健康人の中で各種の臓器におけるトランスクリプトームを比較したデータが、公開データベースに蓄積されて利用可能となっている。本研究では、患者と健康人の中で臓器中のトランスクリプトームを比較したデータを用い、有向性や分岐なども含めた代謝ネットワークの構造を考慮に入れることで、疾患に伴って近傍の代謝流束が増加あるいは減少する代謝物を包括的に推定・抽出する手法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、代謝ネットワークの構造と代謝酵素の発現量変動情報に基づき、疾患に伴って代謝流束が変化すると考えられる代謝物を、従来法よりもバイアスが少なくかつ高い検出力で、包括的に抽出する手法を開発した。本研究で構築された解析手法は、代謝経路の変動する慢性疾患の病態理解や、新規創薬標的の探索などに有効に活用できると期待される。

研究成果の概要(英文)：Recently, genome-scale metabolic network models, that integrate a vast amount of known information on human metabolic reactions, have been constructed to be publicly available. In addition, data comparing the transcriptomes of various organs between patients and healthy individuals have been accumulated in public databases, and these data will be useful to capture comprehensively the state changes associated with disease progression. In this study, we developed methods to extract comprehensively the metabolic pathways whose metabolic fluxes increase or decrease with disease progression by using data comparing transcriptomes in organs between patients and healthy individuals and taking into account the structure of the metabolic network, including directionality and branching.

研究分野：システム薬理学

キーワード：代謝経路 病態 推定手法

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む多くの哺乳類において、小分子代謝物の血中濃度恒常性は生命維持に必要な不可欠な生体高次機能の一つであり、栄養物質の吸収・血流を介した全身臓器への分配・細胞機能の維持に必要な物質への代謝変換・不要な代謝物の体外への排泄という、多臓器・細胞機能が連関したシステムによって維持されている。これらのプロセスは、ADME と呼称される小分子薬物の体内動態制御プロセスと類似しているものの、外部から投与された薬物の場合とは異なり、生命維持に必要な各種代謝物の生合成経路が存在すること、さらに細胞内への代謝物取り込み速度や細胞内での代謝反応速度が、種々のホルモンによって精密な制御・調節を受けていること、また余剰な代謝物の一部は細胞内プール（グリコーゲン・中性脂質・タンパク質など）として蓄積されること、などの点で遥かに複雑なプロセスと言える。生体は、このような複雑かつ精密な生体内代謝制御システムを有することで、様々な外部環境の変化に対しても一定の範囲内で生体機能の恒常性を維持することが可能となっている。一方で、バランスの偏ったあるいは過剰量の栄養物質を継続的に摂取するなど、生体内代謝制御システムの安定性限界を超える環境要因が負荷された場合、細胞内プールの過剰蓄積や代謝経路の変質、他の細胞機能の破綻などを引き起こし、これが様々な代謝異常疾患の発症に繋がっていると考えられる。一方、このような小分子代謝物の血中濃度恒常性をシミュレーションによって理解・予測するためには、薬物動態学領域における ADME 生理学的モデルのように、多数の臓器が血流で連結されたシステムとして生体を捉えた、個体レベルの数理モデルが有用と考えられる。しかしながら現状では、個体レベルのみならず、臓器レベルの代謝応答性を記述する数理モデル構築も十分には試みられていない。これは、個別の代謝反応を記述する際に汎用される反応速度論モデルの手法を、複雑なネットワークを構成している細胞内代謝経路全体を包括するモデルに適用しようとした場合、全ての反応に関して速度論パラメータの値が必要となるが、細胞内の代謝反応に関して速度論パラメータを実測することは容易でなく、十分なデータベース情報を得ることもできないこと、などが理由になっていると考えられる。

2. 研究の目的

そこで本研究では、小分子代謝物の体内動態制御において最も中心的な役割を果たす臓器であり、様々な物質の分解・生合成が活発に行われている肝臓に焦点を絞り、臓器レベルの代謝応答性を記述できる数理モデルを構築する検討を通じて、他の臓器にも適用可能な応用性の高いモデル構築手法の確立を目標とした。

研究開始当初は、臓器レベルの代謝ネットワークモデルに対して代謝流束均衡の解析を行う予定であったが、Recon3D モデルの精査を進めていく過程で、現在までに知られている代謝反応の情報が最も包括的に集められているモデルであるにも関わらず、流束均衡の条件を満たすように設定できる部分が、想定以上に狭いことが判明した。このことによって、網羅性の高いゲノムスケール代謝ネットワークを利用する価値が半減してしまうと考えられた。そこで本研究の目標である、「臓器レベルの代謝システムが外部刺激などに応答してどのように変化するのか、を定量的に予測する」ことを達成するための新たな手段の考案、それを実現するアルゴリズム開発を行った。外部刺激に応答した変化を最も包括的に実測可能なのはトランスクリプトームであるため、トランスクリプトームの実測結果に基づいて、代謝流束が増加する、あるいは減少すると考えられる部位を、代謝ネットワークの中から抽出・特定する手法の開発を行い、その有用性の検証を行なった。

3. 研究の方法

3-1. Recon3D データ取得と前処理

ゲノムスケール代謝ネットワークのリファレンスモデルとしては Recon3D_3.01 (19.02.2018) を採用した。モデルは MATLAB の構造体配列の形式で、Virtual Metabolic Human database より配布されている。まず、Recon3D のデータを精査し、代謝酵素と代謝反応の対応、反応量論係数行列における代謝物と代謝反応の対応、代謝物の ID と代謝物名の対応に関して、明らかに誤記と判断される箇所を文献に基づいて修正した。また Recon3D では、transcript variants に関して異なる ID が付与されている（遺伝子 ID + variant ID）が、一般に公開データベースより入手可能なトランスクリプトーム情報においては variants を区別していないケースが多い。これに対応するため、遺伝子 ID のみの項目を MATLAB 構造体配列に追加した。また、Recon3D には各代謝酵素の名称情報が登録されていないため、gene symbol および gene description を、HUGO Gene Nomenclature Committee の公開情報より取得して構造体配列に追加した。また本研究では、疾患に伴って変化する代謝物や代謝経路を抽出する手法を構築したが、その際に代謝物をノード、反応をエッジとする有向グラフを Recon3D に基づいて構築して使用している。この有向グラフが適切に構成できるように、Recon3D に含まれる全ての代謝反応に関して、反応前後で炭素鎖の一部が受け継がれる代謝物同士を連結可能として指定する情報を構造体配列に追加した。なお、補酵素が関与する、炭素原子を含む官能基を転移する反応においては、転移対象の官能基を

持たない補酵素自体は連結に含めないよう除外した。

3-2. Integrative Network Inference for Tissues (INIT) アルゴリズムの改良

Recon3D を基に修正・改変した上記リファレンスモデルから、各臓器で実際に稼働していると推測される部分ネットワークを抽出する手法として INIT を採用し、Recon3D ベースのモデル形式を取り扱えるように実装し直した。この際に、代謝酵素の発現情報から代謝反応のスコアを算出する際の換算方法を、Recon3D に含まれる論理式を用いて算出するように改変した。また、細胞内外の物質輸送に関する取り扱いを変更し、特定の物質に関して細胞内外の輸送が存在していることを示唆する情報がある場合に、その情報が経路抽出に反映されやすいように改変した。さらに、抽出した部分ネットワークに含まれる代謝反応に関与する代謝酵素を同定するステップで、代謝酵素複合体の情報が欠落しないように改変した。また、最適化計算のソルバーを Mosek から Gurobi Optimizer に変更することで計算時間を短縮した。

3-3. ヒト肝臓、脂肪組織、骨格筋に関する代謝酵素発現スコアの算出

INIT を用いて臓器ごとの部分ネットワーク抽出を行う際には、Recon3D に含まれる各代謝酵素に関して、臓器ごとの発現プロファイルを反映するスコアを付与する必要がある。本研究では、代謝性慢性疾患の病態に中心的に関係すると考えられる、ヒトの肝臓・脂肪組織・骨格筋に関してスコアの付与を行なった。信頼性を高めるため、複数の公開データベースより mRNA レベルの発現量情報およびタンパク質レベル（質量分析および免疫組織染色）の発現量情報を取得し、各発現量情報を統合して代謝酵素の発現スコアを算出した。

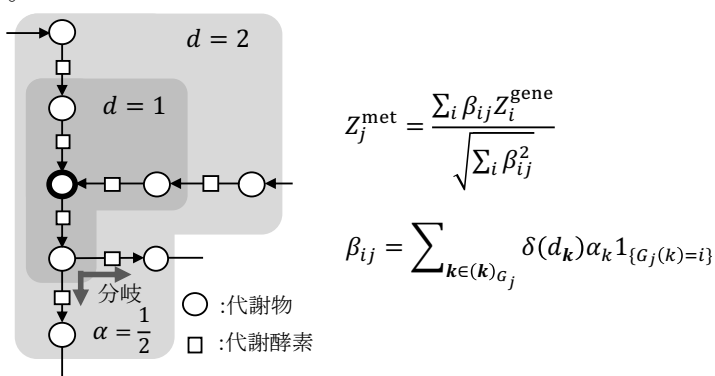
3-4. 多臓器連結モデルの構築

肝臓・脂肪組織・骨格筋について、稼働していると推測される部分ネットワークの抽出を行なった後、これらを細胞外領域の代謝反応ネットワークで連結することで、多臓器連結モデルとして再構築した。細胞外領域の代謝反応ネットワークとしては、細胞外領域における全ての代謝反応（分泌される酵素や細胞表面上の酵素による反応）から、肝臓・脂肪組織・骨格筋で稼働する代謝反応のいずれにも含まれない細胞外代謝物のみで構成される代謝経路を取り除き、残りの部分ネットワークを使用した。これは、肝臓・脂肪組織・骨格筋以外の臓器から供給される代謝酵素が媒介する代謝反応を介して、これらの臓器間で代謝ネットワークの連結が生じる可能性を排除しないためである。なお、多臓器連結モデルに含まれる全ての要素に対して、重複しない ID（多臓器連結モデル要素 ID）を付与した。この ID を一つ指定すれば、連結モデル中のどの場所（肝臓・脂肪組織・骨格筋・細胞外領域）の、どんな種類（代謝物、代謝酵素、代謝反応）の、どの要素かが特定できるように設定した。

3-5. 各代謝物を通る代謝流束が顕著に変化する部分を特定する手法の開発

代謝ネットワークモデルに含まれる各代謝物の近傍の代謝ネットワークはその代謝物より上流に位置する生産経路と、その代謝物から下流に位置する消費経路とに分けられる。そのそれぞれについて、含まれる代謝酵素の発現量が増加している場合、その代謝物を経由する代謝流束は増加していると想定される。逆に、含まれる代謝酵素の発現量が減少している場合は代謝流束も減少していると想定される。この想定に基づいて、代謝物の生産経路と消費経路に含まれる代謝酵素の、病態に伴う発現量変化に基づいて、代謝流束が病態に伴って顕著に変化している、と推測される代謝物を網羅的に抽出するアルゴリズムを構築した。代謝酵素の発現量変化に関する情報としては、患者群と健常群の比較データが公開データベース上に豊富に存在するトランスクリプトームデータを用いた。具体的には、マイクロアレイの実測データと代謝ネットワークの構造に関する情報から、各代謝物の変化の指標となる統計量（Z 値 Z_j^{met} ）を、生産と消費それぞれに関して算出する方法を考案した。

代謝ネットワーク中の代謝物に関して、その代謝物に関連する代謝酵素の発現量変化に基づいて、代謝物の変化指標を算出する手法は過去にも報告されているが、これら既存手法では対象とする代謝物の生産や消費に直接関与する代謝酵素のみの情報を用いている。しかしながら、これらの代謝酵素以外にも、対象の代謝物を通る代謝流速に間接的に影響を与える代謝酵素や、代謝反応の方向や分岐などの代謝ネットワーク構造、また代謝酵素の発現量変化の上昇あるいは下降など、様々な要素が代謝流束に影響を与えると考えられる。これら



Z_j^{met} の評価対象の代謝物 j は太枠で表している。 d は代謝物 j からの深さ、 $\delta(d)$ は深さに応じた係数、 α_k は分岐に応じた係数、 $\{G_j(k), (k)_{G_j}\}$ は近傍ネットワークの構造を表す。

の情報も評価に加えることで、病態に伴う代謝ネットワークの変化の中で、既存の方法では検出が困難なものも抽出できる可能性がある。そこで、評価対象の代謝物を直接消費・生産する代謝酵素だけでなく、代謝ネットワーク上でその代謝物から一定の範囲内に位置し、消費あるいは生産に関与する全ての代謝経路を抽出し、評価に組み込むこととした。抽出した部分ネットワーク

に含まれる全ての代謝酵素に関して、代謝物からのネットワーク上での経路長（深さ）や、ネットワークの分岐構造などを考慮して評価値の算出に用いることで、信頼性の高い指標となるように工夫した。上図に、代謝物—代謝酵素—代謝物の連結で構成されるネットワーク構造の一例と、対象となる代謝物の変化を反映する評価値 Z^{met} の算出法を示した。太線で示した丸印が、対象とする代謝物に該当する。まず、対象の代謝物 j に対して、深さが一定範囲内に位置する代謝物と代謝酵素を抽出する。次いで、抽出された全ての代謝酵素に対し、各代謝酵素 i の発現変化を反映する評価値 Z_i^{gene} を、トランスクリプトームデータに基づいて算出する。代謝酵素の発現変化を反映する指標値としては、トランスクリプトームの 2 群間で、平均についての student の t 検定（片側）による p 値を算出し、これを逆正規累積分布関数によって変換した Z 値を採用した。最後に、抽出された全代謝酵素に関して、重み付き（ β_{ij} ）で Z_i^{gene} を集計することで、代謝物 j の変化を反映する評価指標 Z_j^{met} を算出する。 β_{ij} の設定は、評価対象の代謝物からの深さ、およびネットワークの分岐構造を考慮して調整された係数としている。

3-6. 代謝流束が顕著に変化する直鎖代謝経路を特定する手法の開発

反応の方向が揃い、かつ連続した代謝反応である直鎖代謝経路において、関与する代謝酵素の発現量が増加方向に変化している場合、その代謝経路の代謝流束も増加している可能性が高い。逆に、発現量が減少方向に変化している場合は代謝流束が減少している可能性が想定される。このような想定に基づき、直鎖代謝経路の Z^{path} 値を、3-5. と同様の手法を用いて、その代謝経路に含まれる代謝酵素の Z^{gene} 値から算出し、代謝ネットワーク全体の中で特に Z 値が顕著な値をとる代謝経路を抽出することで、代謝流束が変化している可能性の高い直鎖代謝経路の抽出を試みることにした。代謝酵素の Z 値を用いた評価を行なって、代謝部分ネットワークを抽出する方法論は過去にも試みられた例があるが、この既報では各代謝酵素をノードとし、同じ代謝物が代謝反応に関与する代謝酵素同士をエッジでつないだ無向グラフを用いて、直鎖代謝経路に限定せず、分岐した経路も含めた探索を行っている。この手法は、発現量が顕著に変化する代謝酵素が集中している箇所を探索する目的では有効と考えられるが、代謝流束が変動している代謝経路を探索するためには、鎖長および反応方向を一定に揃えた、直鎖の部分ネットワークという制約の下で探索を行う必要があると考えた。そこで本研究では、直鎖代謝経路のみを対象に、代謝酵素発現量の上昇・低下を区別して探索するアルゴリズムを構成した。

多臓器連結モデルには多数の代謝物・代謝反応が含まれており、条件を満たす全ての代謝経路は膨大な数が存在する。その全経路に関して Z 値を算出して比較するのは、現実的な時間内では不可能である。そこで、Simulated Annealing 法を用いて、最適な Z 値を持つ経路を heuristic に探索するアルゴリズムとした。

3-7. 2型糖尿病のトランスクリプトーム実測データを用いた検証

上記で構築した 2 種類の探索手法の有用性を、2 型糖尿病を対象疾患として検証した。2 型糖尿病患者と健常人の間で、肝臓・脂肪組織・骨格筋における遺伝子発現プロファイルと比較したマイクロアレイデータを公開データベースより取得し、多臓器連結モデルに含まれる各代謝酵素に関して Z^{gene} 値を算出した上で、上記アルゴリズムを適用して、全代謝物の Z^{met} 値を計算した。代謝物ごとに計算に含める代謝酵素の範囲を指定する、深さの最大値を、計算コスト上の最大値である 5 に設定した。

また、Simulated Annealing 法による経路探索を行なって、 Z^{path} 値が局所最大あるいは局所最小（負になる側で絶対値最大）となる直鎖代謝経路を抽出した。Simulated Annealing 法は、大域的な最適解に近い解を得る目的で一般的に用いられるが、本研究では温度パラメータを低く設定し、また iteration 回数を少なく設定することで、代謝ネットワーク上で局所最適となっている直鎖代謝経路が多数得られるように工夫した。

4. 研究成果

4-1. 多臓器連結モデルの構築

既知のヒト代謝酵素による代謝反応を網羅して構成された、ゲノムスケール代謝ネットワークモデルである Recon3D をリファレンスモデルとして、肝臓・脂肪組織・骨格筋における代謝酵素の発現プロファイルと最も整合するように、各臓器で実際に稼働していると推定される部分代謝ネットワークの抽出を試みた。各臓器のモデルはいずれも代謝物、代謝酵素について 8 割程度が抽出されていた。これは manual curated な肝臓のモデルである iHepatocyte2322 (代謝物 2890 種類、代謝反応 7930 種類、代謝酵素 2322 種類) に比べても大きなモデルである。これは、リファレンスモデルとして用いた Recon3D がそもそも網羅的で多くの代謝反応と代謝物を含むモデルであること及び、反応に関与する代謝酵素の発現の有無の情報が乏しい場合にそれだけを理由にモデルから除かれることがないように INIT のスコアを設計していること、などに起因すると考えられる。また、3 臓器に共通した部分が大きな割合を占めていた。これは細胞として生存に必須な代謝反応が共通して抽出されていることと、および、発現の有無の情報が乏しい場合にも共通して抽出されていることが理由として考えられる。各臓器において代謝酵素は Recon3D から 5~6 割程度が抽出されていた。反応に比べて抽出される代謝酵素の割合が小さく、臓器間の共通性が低いのは、臓器ごとに同じ代謝反応でも担う酵素が異なっており、それぞれの臓器において代謝反応を担うものだけが抽出されているからだと考えられる。抽出された各臓器の代謝ネットワークモデルに含まれる細胞内外の物質輸送反応を考慮した上で、細胞外領域

(およびそれと平衡状態にある循環血中)の代謝ネットワークをRecon3Dより抽出した。この細胞外領域・循環血代謝ネットワークと、各臓器の代謝ネットワークを結合し、結合部分の代謝物・代謝酵素に関してIDを振り直すことで、最終的な多臓器連結モデルを構築した。Recon3Dに含まれるが多臓器連結モデルに含まれない要素はこれら3臓器以外、例えば神経系や免疫系などで特異的に稼働している代謝経路に関わると考えられる。

4-2. 2型糖尿病に伴う代謝ネットワーク変動の解析

4-2-1. 代謝流束の変化が推測される代謝物の検出

2型糖尿病患者群と健常者群の間で、代謝酵素発現量の変動を反映する Z^{gene} 値、および多臓器連結モデル内の代謝ネットワーク構造に基づいて、各代謝物に関して Z^{met} 値の算出を行ない、各代謝物を經由する代謝流束が変動している可能性のある代謝物の抽出を試みた。多臓器連結モデルに含まれる全代謝物18,782個のうち、代謝流束が有意に増加すると考えられたものは654個、減少すると考えられたものは715個抽出された。次にこれらの代謝物を、 Z^{met} 値の算出に用いられた代謝酵素の類似性に基づく階層状クラスター解析を適用して解析した。一連の解析で分類されたクラスターを分析すると、2型糖尿病病態との関連性が既知の代謝経路に含まれる代謝物や、あるいは2型糖尿病に関する既知情報から、関連性が容易に推測される代謝物の近傍代謝経路(例えば、肝臓における脂肪酸の合成・伸長の亢進)に含まれる代謝物が多く含まれていた。一方で、2型糖尿病との関連性があまり知られていないクラスターもいくつか見つかった。例を挙げると、複数の臓器間で共通して抽出されるものとして、増加側の代謝物の中では、脂肪組織と肝臓におけるガングリオシドやプロテオグリカンの分解経路が、減少側の代謝物の中では脂肪組織におけるGPIアンカー型タンパク質合成経路が検出された。また、クラスターには分類されなかったものの、顕著な Z^{met} 値を持つ代謝物として、代謝流束の低下が推測される側において、脂肪組織における分岐鎖アミノ酸・フェニルアラニンの分解経路に関連する代謝物、およびミトコンドリア呼吸鎖に関連する代謝物、また、骨格筋における分岐鎖アミノ酸・トリプトファン代謝物、乳酸、リポ酸関連代謝物などが含まれていた。

4-2-2. 代謝流束の変動が推測される直鎖代謝経路の探索

同様に、代謝酵素発現量の変動を反映する Z^{gene} 値および多臓器連結モデルに基づいて、代謝流束が変動する可能性のある直鎖代謝経路の探索を行なった。初期状態はそれぞれ1,000個発生させ、5,000回のiterationを行なった。この際、温度パラメータを0.5から0.005まで線形に下げることによって、それぞれ Z^{path} 値が局所最大/最小となる直鎖代謝経路に収束させた。次いで、各探索条件で得られた解の中からそれぞれ、有意に変化すると想定された直鎖代謝経路を抽出し、その経路内に含まれる代謝物の類似性に基づいてクラスター解析を行うことで、解の分類を行なった。鎖長ごとにコサイン類似度で定義される距離による完全連結法でクラスター解析を行い、クラスター間の距離が1になるクラスター同士に分類した。その結果、鎖長5では、流束増加側で155クラスター、減少側で200のクラスターが得られた。流束上昇が予測される側では、脂肪組織においてガラクトースがガラクトールに変換された上で肝臓に輸送される経路、肝臓における脂質合成の経路などが上位にランクされた。6位や36位に脂肪組織におけるスフィンゴ糖脂質の分解経路、23位に肝臓における解糖系、などが検出された。また、流束の低下が予測される側では、骨格筋におけるプロピオン酸関連代謝経路、脂肪組織における脂肪酸の合成・伸長経路が検出された。20位に脂肪組織におけるGPIアンカー合成経路、29位にリポ酸関連代謝、14位に骨格筋におけるグルタミン酸代謝などが検出された。

4-3. GPIアンカー型タンパク質の細胞表面提示量の検証

抽出された代謝物群の中で、2型糖尿病患者群において代謝流束が低下している可能性が推測される代謝物群の一つに、脂肪組織におけるGPIアンカー合成経路が含まれていた。過去の文献報告を精査したが、脂肪組織におけるGPIアンカーの合成経路と2型糖尿病病態の関連性に着目した報告は見出されなかった。そこで、本研究では特にこの点に着目して実験的な検証を試みた。3T3-L1脂肪細胞を用いた検討を行なったところ、酸化ストレス負荷によるインスリン抵抗性の誘導に伴って、GPIアンカーの合成が低下する結果が得られた。GPIアンカーの供給が低下すれば、GPIアンカー型タンパク質の細胞表面への提示量にも影響が生じる可能性が想定できる。この点を、定量的プロテオミクス手法を用いて検証することとした。GPIアンカーを選択的に切断する酵素として、PI-PLCが知られており、細胞培養系に対して細胞外にPI-PLCを添加してインキュベーションを行うことで、細胞表面のGPIアンカー型タンパク質が遊離される。酸化ストレスへの曝露処理を行なった3T3-L1脂肪細胞およびコントロール処理群に対し、それぞれPI-PLC処理を行なって、細胞表面に提示されているGPIアンカー型タンパク質を遊離・回収した。また、PI-PLC処理後の細胞をそれぞれ回収し、タンパク質量の測定を行い、この定量結果を基準として、遊離・回収されたGPIアンカー型タンパク質の定量的プロテオミクス解析を行なった。3回の独立した測定で合計20種類のGPIアンカー型タンパク質が検出された。また、20種類すべてのGPIアンカー型タンパク質の細胞表面提示量が低下していることが示唆された中でも特に、Vcam1、Gpc4、Gas1に関しては、細胞表面提示量が大きく低下していると考えられた。一連の検証結果を踏まえ、本研究で開発された探索アルゴリズムは、疾患に伴って代謝流束が変化する可能性の高い部位を特定・抽出するのに有用と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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