

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03304

研究課題名(和文) 多細胞体制を獲得した奇妙な寄生性渦鞭毛藻ハプロゾーンの種多様性・進化に関する研究

研究課題名(英文) Studies on species biodiversity and evolution of enigmatic parasitic dinoflagellates, Haplozoon spp., which acquired multicellularity.

研究代表者

堀口 健雄 (HORIGUCHI, TAKEO)

北海道大学・理学研究院・名誉教授

研究者番号：20212201

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,540,000円

研究成果の概要(和文)：単細胞生物渦鞭毛藻類の仲間でありながら、唯一多細胞体制を獲得した寄生性渦鞭毛藻Haplozoonに関して、種多様性、系統的位置、細胞学的特性などを明らかにすることを目的とした。国内からはH. pugnusのみが確認された。宿主は異なるが、カナダからもH. pugnusが見つかり広域分布の種の初の発見例である。単細胞トランスクリプトームで得た241の遺伝子を用いた系統解析により、本群は渦鞭毛藻綱ペリディニウム目内で進化してきたことが示された。また、膜系の研究では、真の多細胞体であることが示唆された。痕跡的葉緑体のトランスクリプトーム解析、微細構造および共生細菌の機能解析等については継続中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

寄生性渦鞭毛藻Haplozoonの種多様性、系統関係、細胞構造や痕跡的葉緑体の機能の詳細等には未知の部分が多かった。北海道、広島、カナダから同一種が確認され、太平洋の両側に至る広い分布をもつ種がいることが初めて明らかになった。単細胞トランスクリプトーム解析を用いた複数遺伝子による系統解析の結果、本群が渦鞭毛藻のペリディニウム目生物から進化したことが明確になった。膜系の研究から真の多細胞体制をもつことも示唆された。これらの成果は新奇の発見であり、謎多きグループの実態に迫れた点で意義深い。現在進行形の痕跡的葉緑体のトランスクリプトーム解析は葉緑体を「失うという進化」に関する示唆を与えるであろう。

研究成果の概要(英文)：The parasitic genus Haplozoon is known to possess multicellular organization and this is the only example of multicellularity within the group Dinophyceae. The aims of this project were to understand species diversity, accurate phylogenetic position and cytological features of the genus Haplozoon. All the specimens from Japan were identified as H. pugnus and also the same species has been identified from Canadian Pacific coast, although the host species were different. Multigene phylogeny based on 241 genes obtained through unicellular transcriptomic method indicated that the group had evolved within the order Peridiniales. Membrane staining study revealed that the organisms have true multicellular organization. Functional and structural analyses on remnant plastid, apical spine and endosymbiotic bacteria are currently underway.

研究分野：藻類分類学

キーワード：寄生性渦鞭毛藻 ハプロゾオン属/Haplozoon 単細胞トランスクリプトーム解析 光合成機能の消失進化 細胞の微細構造 分子系統解析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

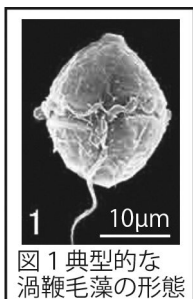


図1 典型的な渦鞭毛藻の形態

渦鞭毛藻類(図1)は単細胞の真核生物で、2500種ほどが知られ淡水から外洋まで広く分布する。単細胞ながら多彩な形態を持つことで知られるが、その中でもひととき異彩を放つグループが本研究で取り上げるハプロズーン属 *Haplozoon* である(図2)。1目1科1属の本属は海産無脊椎動物多毛類(ゴカイ類)などの消化管内に寄生する生物である。渦鞭毛藻でありながら、多細胞体制をしており、細胞間でいくらかの機能分化も見られ(図2)、一般的な渦鞭毛藻類(図1)との形態的違いは際立っている。*Haplozoon*は今までに世界中から15種が報告されており、そのほとんどがタケフシゴカイ科のゴカイに寄生している(図3)。*Haplozoon*に関しては20世紀前半(Dogiel 1906)からその存在が知られていたものの15種中12種については光学顕微鏡レベルの報告のみで、現代的な手法で研究された種は3種のみである。しかも、日本における本属の生物に関する研究は申請者らの2018年の新種記載の研究(Wakeman et al. 2018)のみであった。その後、我々の研究室によって2種の新種が発表された(Yamamoto et al. 2020)。

本属の細胞内構造の研究(TEM)も申請者ら自身の研究も含め3件(Siebert and West 1974; Wakeman et al. 2018; Yamamoto et al. 2020)あるものの細胞学的詳細は未だに不明確である。興味深い事に申請者らの研究で、本グループ生物の細胞内には痕跡的葉緑体が存在することが明らかとなった(図4)(Wakeman et al. 2018)。渦鞭毛藻全体の半数を占める従属栄養性の種は、分子系統学的証拠から、二次的に葉緑体を消失したと考えられているが、実際に渦鞭毛藻類では、痕跡的葉緑体の存在が電顕レベルで明らかになった例は無い。従ってこのように電子顕微鏡下で比較的容易に見つかる痕跡的葉緑体の存在は「葉緑体の退行的進化」過程における「失われつつある葉緑体」の実体、痕跡的葉緑体の機能・分裂機構などを分子レベル・電顕レベルで調査する貴重な機会を与えてくれる。また、頂端細胞には寄生の際に用いられる本属特有の刺状突起があり、連続的に出し入れの運動をおこなう(図5)が、その微細構造、運動メカニズム、起源(何が変化したのか)なども不明である。さらに本生物に関しては、多細胞化に関する研究材料としての魅力もある。電子顕微鏡レベルで原形質連絡、細胞膜および関連の膜系まで詳細に調べられた例もない。

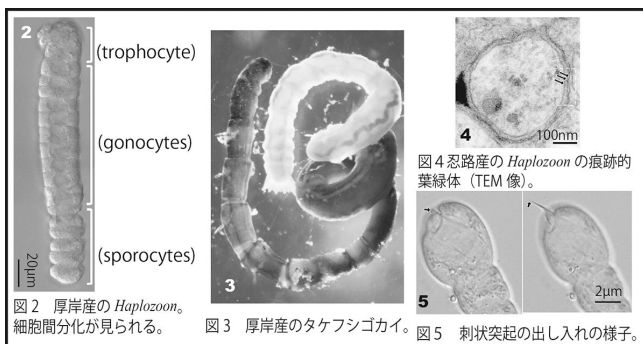


図2 厚岸産の *Haplozoon*。細胞間分化が見られる。



図3 厚岸産のタケフシゴカイ。

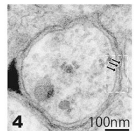


図4 忍路産の *Haplozoon* の痕跡的葉緑体(TEM像)。

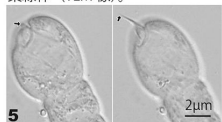


図5 刺状突起の出し入れの様子。

2. 研究の目的

上記の背景を受けて、本プロジェクトでは、*Haplozoon*を対象として、(1)さらなる種多様性を明らかにする、(2)系統的位置を複数タンパク質遺伝子の解析により明確にし、進化過程(何から進化したのか?)を正確に推定する、(3)宿主と*Haplozoon*の種特異性および共進化の実体を探る、(4)電顕レベルで、一般的細胞構造、多細胞体構築に関わる膜構造等の詳細、刺

状構造の構造などを明らかにする、(5)痕跡的葉緑体の分裂機構および機能(単細胞トランスクリプトーム解析)を明らかにし、退行的進化途上の葉緑体の「今」を明らかにする、ことを目的とした。

3. 研究の方法

3-1. サンプルの採集地

COVID-19の影響で研究期間中、当初の予定のように採集を実施できなかった。そのような環境下で実施した採集は以下のとおり。

2020年度: 2020年6月: 北海道忍路, 2020年7月広島県竹原, 2021年3月広島県竹原で採集。

2021年度: 2021年5月北海道厚岸。

2022年度: 2022年6月北海道厚岸, 2022年6月沖縄, 2022年8月北海道厚岸, 2022年9月北海道厚岸, 2022年9月沖縄, 2022年10月沖縄。

なお、沖縄では、採集の他に共同研究者である沖縄科学技術大学院大学(OIST)の研究者との打ち合わせなども実施した。

これらの他にカナダ・プリティッシュコロンビア大学およびニュージーランド・カウスロン研究所との国際共同研究においてそれぞれの国で採集した個体についても研究を実施した。

3-2. サンプルの処理方法

サンプル採集では、海岸の海草類を根元から掘り起こし、根元のまわりの泥の中に生息するタケフシゴカイ類を集める(図6-8)。次に実体顕微鏡下でタケフシゴカイの個体を海水中で先の鋭利なピンセットで切り裂き、動物の組織を破壊するとともに体外にこぼれ出た *Haplozoon* の個

体をガラスピペットで分離する。



3-3. 形態観察の方法

本研究での形態観察の方法は、基本的に Yamamoto et al. (20202) に従った。

3-4. 単細胞トランスクリプトーム解析法

東太平洋沿岸に沿って収集されたサンプルについては、Illumina Nextera XT (Illumina) プロトコルを用いて配列決定ライブラリーが調製された。ライブラリーは、プリティッシュコロロンビア大学のシーケンシングおよびバイオインフォマティクス コンソーシアムによって、150 bp ペアエンドリードを備えた Illumina NextSeq 500 で配列決定された。

北海道厚岸からの 4 個体の *H. pugnus* に基づくライブラリーは、NEBNext Ultra II (NEB) キットを使用して調製された。ライブラリーはバーコード化され、沖縄科学技術大学院大学の配列決定部門によって Illumina NovaSeq6000 を用いてペアエンドリード (2 x 150 bp) で配列決定された。詳細については Park et al. (2003) を参照のこと。

3-5. 複数遺伝子を用いた系統解析

単一遺伝子系統樹は、LG4X モデルを用いて IQTREE ver. 1.6.12 によって推定された (Nguyen et al., 2015)。詳細は Park et al. (2023) を参照されたい。

3-6. 細胞学的観察

3-6-1. 細胞膜の染色

多細胞体制の膜系の特徴を把握するために、細胞を構成する膜系を CellMask と CellBrite という 2 種類の染色法で染色をおこなった。前者は生細胞に対しておこなうもので、後者は固定細胞に対しておこなうものであり、それぞれに利点をもっている。CellMask (Life Technologies) は他の真核生物での研究で生細胞染色として用いられるものである。この染色法は他の化学薬品を用いた染色法に比べ、好ましく無い副作用を示さないという利点をもつ。この方法を用いることにより、*Haplozoon* 個体の膜特性を他の真核生物と比較することが可能になる。本薬剤の染色方法については、製品のプロトコルに従った。

CellBrite (Biotium) は比較的新しく開発された染色剤で、生細胞に応用可能であるが、固定細胞でも使え、細胞骨格 (チューブリンやセントリン) の染色と同時に使用できるという利点もある。本研究では、チューブリンとセントリン染色とともに CellBrite を用いて *Haplozoon* の多細胞体の膜系の染色をおこなった。方法は、製品のプロトコルに従った。

4. 研究成果

4-1. *Haplozoon* の種多様性



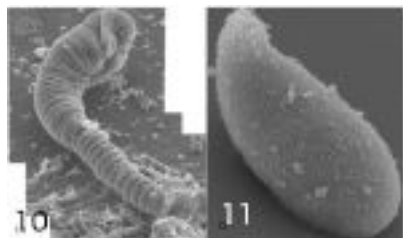
COVID-19 の影響で計画通りの採集はできなかったが、助成期間中の採集は北海道沿岸を中心とし、広島県の瀬戸内海ならびに沖縄にて実施した。

広島瀬戸内海から採集された宿主 *Nicomache* sp. に寄生していた個体は、すでに北海道から報告済みの *Haplozoon pugnus* であると同定された (図 9)。

また、ニュージーランドからの個体は未記載種 (図 10) であると判断されたが、正式な種同定は、現在共同研究としてニュージーランド側と進めている。ここでは、発生初期の単細胞段階の形態データも得られている (図 11)。

北海道では、厚岸から *Haplozoon pugnus* が採集された。元々、本種は厚岸と室蘭から記載された種であるが、その後複数回にわたって採集を実施したが、厚岸から採集されたものは *H. pugnus* のみであった。また、カナダのプリティッシュコロロンビア大学との共同研究により、カナダの太平洋岸にも *H. pugnus* が生育していることが明らかとなった。日本の *H. pugnus* とカナダの *H. pugnus* の塩基配列は 99.8% と高い相同性を示すことが確認された。両者は同一種と断定され、太平洋の東側と西側という距離の離れた場所に同一種が存在するという (分布が広い) という興味深い事実を初めて明らかにすることができた。

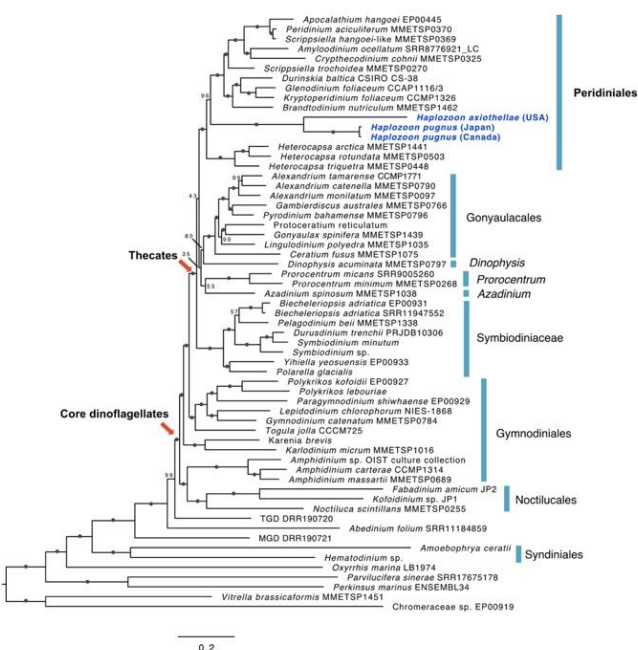
さらに宿主との関連においても興味深い事実が明らかになった。以前の我々の研究で、*Haplozoon pugnus* は 2 箇所 (室蘭、厚岸) のタケフシゴカイから採集されたが、それぞれの宿主は室蘭が *Nicomache personata*、厚岸の宿主が *Nicomache* sp. と同定された。両者は COI 遺伝



子の塩基配列で 10%程度相違していたことからこの 2 種の宿主は別種と考えられた。一般に同一の *Haplozoon* は同一の宿主に寄生すると考えられていたため、この事実は興味深く受け入れられた。さらに今回、カナダの *H. pugnus* の宿主の COI 配列を調べたところ、日本のものとは、90.1%および 94.7%の相同性を示すとどまった。従って、カナダの *Nicomache* sp. と同定された宿主も日本の宿主と異なることが明らかとなった。このことから、*H. pugnus* に関しては、(近縁ではあるものの) 必ずしも同一でない宿主に寄生できるということが明らかになった。一方、以前の研究では、アメリカから採集された *H. praxillellae* は日本の忍路から記載された *H. ezoense* と同じ宿主、*Praxillella pacifica* に寄生していることが明らかとなっている (Rueckert and Leander 2008; Wakeman et al. 2018)。前述の *H. pugnus* の場合とは異なり、太平洋の両岸でしかも異なる種の *Haplozoon* が同じ種の宿主に寄生している例も存在する訳で、*Haplozoon* と宿主の種特異性に関しては、今まで考えられていたような単純な一対一対応ではないことが示唆される。

4-2. *Haplozoon* の宿主の範囲について

現在までに記載された *Haplozoon* の大部分はタケフシゴカイ類を宿主としている。しかしながら、それ以外の海産動物を宿主とする例も少数ながら知られており (ホコサキゴカイ類, オフェリアゴカイ類, フサゴカイ類, オタマボヤ類), まだ知られていない動物門が *Haplozoon* の新たな宿主として見つかる可能性も否定できない。そこで、海産無脊椎動物を採集し、*Haplozoon* 感染の有無を確認することとした。2020 年 8 月には厚岸臨海実験所, 2021 年の 11 月と 12 月に千葉県館山と三重県菅島, 2022 年には、6 月に忍路と厚岸, 7 月に三重県菅島で海産無脊椎動物相を調査し、採集された環形動物・扁形動物・紐形動物等の消化管をすりつぶして *Haplozoon* 寄生の有無を調べたが、全ての標本において感染は確認できなかった。このように、現在まで、少なくとも我が国沿岸では、タケフシゴカイ以外からは *Haplozoon* は見つかっておらず、*Haplozoon* の宿主に対する特異性はかなり狭い可能性が高いことが改めて示唆された。



4-3. 複数遺伝子領域を用いた *Haplozoon* の系統解析

Haplozoon axiothellae (アメリカ産), *H. pugnus* (カナダ産), *H. pugnus* (日本産) からのトランスクリプトームアセンブリは 10,765, 27,805, 53,394 個のペプチドを含んでおり、それぞれのトランスクリプトームの BUSCO スコアはそれぞれ 55.6%, 84.2%, 52.1%であった。241 個のオーソログを用いた最尤系統樹の結果によると *Haplozoon* はペリディニウム目の系統に位置することが明らかとなった (左図)。すなわち、ペリディニウム目は最大のブートストラップ値で支持される単系統群として認識され、その中では、最初の分岐群として *Heterocapsa* 属が分岐し、その次に *Haplozoon* 属が単系統群として分岐した (*Haplozoon* のクレードも 100%のブートストラップ確率で支持された)。

この複数遺伝子領域による系統解析

で得られた結果は、渦鞭毛藻類の専門家にとってはある種の驚きであった。今回、明確に *Haplozoon* が属すると示されたペリディニウム目とは、典型的な渦鞭毛藻類の系統群の一つで、単細胞性で鎧板と呼ばれる多角形のセルロース質の板で細胞周囲が覆われることを特徴とする。鎧板の数や配列は、本目の属や種レベルの分類形質として用いられる。

一方、*Haplozoon* では、このような多角形の鎧板の存在は知られておらず、鎧板配列と認識できるような規則的な配列ももたない。しかしながら、Yamamoto et al. (2020) および今回の研究結果によれば、*Haplozoon* は典型的な渦鞭毛藻類の細胞外被であるアンフィエスマ小胞構造はもっており、しかもそれぞれの小胞は小さく、棘状に細胞表面に突出するという特有の特徴を示す。しかしながら、それぞれの小胞内には、いわゆる鎧板と呼ばれる構造と類似の板状の構造が存在し、その点では、*Haplozoon* のペリディニウム目との類似性を支持する証拠と言えるかもしれない。とは言え、それ以外はペリディニウム目と一致する形態形質を備えているわけではなく、全く異なる形態を進化させたと考えられる。これは、寄生という生活戦略を取ったことによる形態的变化の結果と思われる。なお、*Haplozoon* は、生活環の中で一時期、典型的な渦鞭毛藻型の単細胞遊泳性ステージを形成するという報告がある (Shumway 1924)。我々の研究では、そのような単細胞相を誘導することは出来ていないが、もし、そのような単細胞相が典型的な渦鞭毛藻型形態を有するならば、ペリディニウム目特有の鎧板配列を有している可能性も残されている。

4-4. 細胞膜染色による多細胞化の比較検討



部が分けたいわゆる合胞体（シンシチウム Syncytium）様式によって構成されると考察されていたが、今回の研究の結果、*Haplozoon* は動物などと同じく多くの細胞が統合されて真の多細胞体を形成していることが明らかとなった。

本研究で、我々は *Haplozoon* の多細胞体制を示す細胞を CellMask（左図）および CellBrite の 2 種類の染色剤を用いて染色した。後者においては、チューブリンとセントリンとの多重染色をおこなった。Angel et al. (2021) の研究では、*Haplozoon* は 1 枚の膜が複数の細胞を取り囲むように存在し、従って膜に囲まれた内

4-5. 現在進行中の研究プロジェクトについて

助成期間中に開始して研究を続けてきたが、3 年間で終了しなかったプロジェクトについては現在進行形で研究を継続している。

4-5-1. 失われた葉緑体機能のゲノム解析

Haplozoon pugnus を材料として、単細胞トランスクリプトーム解析を実施し、ゲノムの解析をおこなっている。特に、我々が興味をもっているのが、痕跡的な葉緑体ゲノムの構成を明らかにすることである。現在は解析の予備段階であるが、2023 年度中には論文として投稿できる予定である。

4-5-2. FIB/SEM を用いた栄養細胞の立体構造構築

集束イオンビーム走査電子顕微鏡（FIB/SEM）の技術を用いて、*Haplozoon* の体の先端の細胞（Trophocyte）にある伸縮運動（棘を出したり引っ込めたりする運動）をする棘状構造の立体構造を明らかにしようとしている。最初の細胞の FIB/SEM 用の切片作製は終了しており、現在 2 個目の細胞の切片に取りかかっているところである。今の所の予定では、2 個目の細胞の切片作製は 2023 年 6 月までに終了する。

4-5-3. *Haplozoon* と共生する細菌のゲノム解析

当初の研究計画には無かったが、本プロジェクトの過程で示された興味深い結果は、*Haplozoon* の細胞内に特異的に存在する共生細菌の存在が明らかになったことである。我々はゲノム解析の過程でほぼ全領域におよぶ細菌のゲノムを取得することができた。実際、*Haplozoon* の細胞内と細胞表面には細菌が存在することは、以前の研究（Leander et al. 2002, Yamamoto et al. 2020）の透過型電子顕微鏡データでも示されている。現在、微分干渉顕微鏡と特異的なプローブを用いて細胞内における細菌の局在場所を特定しようとしている。予備的な研究結果によれば、これらの細菌は *Haplozoon* の代謝の助けとなっている可能性があり、ひょっとするとこの渦鞭毛藻の生存には欠かせない存在なのかもしれない。このような機能的な面もゲノムからのアプローチで探っていきたい。

【引用文献】

- Angel, P., Herranz, M., Leander, B.S., 2021. Insights into the morphology of Haplozoan Parasites (Dinoflagellata) using Confocal Laser Scanning Microscopy. *J. Eukaryot. Microbiol.* 68. <https://doi.org/10.1111/jeu.12855>
- Dogiel, V. V., 1906. *Haplozoon armatum* n. gen. nova sp., der Vertreter einer neuen Mesozoa-Gruppe. *Zool. Anz.* 30, 895–899.
- Katoh, K., Standley, D.M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.* 30, 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Leander, B.S., Saldarriaga, J.F., Keeling, P.J., 2002. Surface morphology of the marine parasite *Haplozoon axiothellae* Siebert (Dinoflagellata). *Eur. J. Protistol.* 38, 287–297. <https://doi.org/10.1078/0932-4739-00882>
- Nguyen, L.T., Schmidt, H.A., Von Haeseler, A., Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 32, 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Park, E., Cooney, E., Phua, Y.H., Horiguchi, T., Husnik, F., Keeling, P., Wakeman, K., Leander, B. 2023. Phylogenomics shows that novel tapeworm-like traits in haplozoan parasites evolved from within the Peridiniales (Dinoflagellata). *Mol. Phylogenet. Evol.* (投稿済み, Minor revisions改訂中)
- Siebert, A.E., West, J.A., 1974. The fine structure of the parasitic dinoflagellate *Haplozoon axiothellae*. *Protoplasma* 81, 17–35. <https://doi.org/10.1007/BF02055771>
- Shumway, W., 1924. The genus *Haplozoon*, Dogiel. Observations on the life history and systematic position. *J. Parasitol.* 11, 59. <https://doi.org/10.2307/3270863>
- Wakeman, K.C., Yamaguchi, A., Horiguchi, T., 2018. Molecular phylogeny and morphology of *Haplozoon ezoense* n. sp. (Dinophyceae): a parasitic dinoflagellate with ultrastructural evidence of remnant non-photosynthetic plastids. *Protist* 169, 333–350. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2018.04.008>
- Yamamoto, M., Wakeman, K.C., Tomioka, S., Horiguchi, T., 2020. Molecular phylogeny and ultrastructure of two novel parasitic dinoflagellates, *Haplozoon gracile* sp. nov. and *H. pugnus* sp. nov. *Phycologia* 59, 305–319. <https://doi.org/10.1080/00318884.2020.1753427>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamamoto Mana, Wakeman Kevin C., Tomioka Shinri, Horiguchi Takeo	4. 巻 59
2. 論文標題 Molecular phylogeny and ultrastructure of two novel parasitic dinoflagellates, <i>Haplozoon gracile</i> sp. nov. and <i>H. pugnus</i> sp. nov.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Phycologia	6. 最初と最後の頁 305 ~ 319
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00318884.2020.1753427	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 Eunji Park, Elizabeth Cooney, Yong Heng Phua, Takeo Horiguchi, Filip Husnik, Patrick Keeling, Kevin Wakeman, Brian Leander	4. 巻 -
2. 論文標題 Phylogenomics shows that novel tapeworm-like traits of haplozoan parasites evolved from within the Peridinales (Dinoflagellata).	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Phylogenetics and Evolution	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） なし	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kevin C. Wakeman
2. 発表標題 Patterns of evolution and diversity of marine apicomplexans and parasitic dinoflagellates.
3. 学会等名 Asian Congress of Protistology（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀口健雄
2. 発表標題 渦鞭毛藻研究～多様性・進化・細胞内共生～
3. 学会等名 第45回日本藻類学会（東京大会～オンライン）（招待講演）
4. 発表年 2021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	柁原 宏 (KAJIHARA HIROSHI) (30360895)	北海道大学・理学研究院・教授 (10101)	
研究 分担者	WAKEMAN KEVIN (WAKEMAN KEVIN) (70760221)	北海道大学・高等教育推進機構・助教 (10101)	

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			
カナダ	University of British Columbia			
ニュージーランド	Cawthron Institute			