

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08254

研究課題名（和文）疾患モデルを用いたペルオキシソーム形成異常症発症因子の特定

研究課題名（英文）Identification of the pathological metabolites of peroxisome biogenesis disorder using disease models

研究代表者

高島 茂雄（Takashima, Shigeo）

岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・准教授

研究者番号：50537610

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）：ペルオキシソーム形成異常症の様々な症状は、ペルオキシソームでの代謝産物の変動とそれに伴う遺伝子発現異常によって生じると考えられるが詳細は不明である。未解明の病態発症機構を明らかにすることを目的に本研究を行った。疾患モデルゼブラフィッシュを用いた解析から、疾患特異的に蓄積する脂肪酸分子種や、発現が変動する遺伝子群を明らかにした。疾患モデル細胞を用いた解析からは、軽症患者で見られるモザイクペルオキシソーム（細胞ごとのペルオキシソーム数の偏り）の原因がペルオキシソーム生合成と分解の周期的繰り返しによって生じることを明らかにした。本研究によって本疾患の病態発症メカニズムについて有用な知見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペルオキシソーム形成異常症の病態発症機構は不明であり、本疾患の理解と治療法開発のためにもその解明は重要である。本研究によって、病態特異的に蓄積する脂肪酸種や症状につながる遺伝子発現変動が判明し、さらにモザイクペルオキシソームの生じるメカニズムも明らかになった。これらはヒト患者からは得られなかった知見であり、本疾患の理解をさらに深めるための大きな手掛かりになると考えられる。さらに本研究で用いた疾患モデルフィッシュと疾患モデル細胞は治療候補のスクリーニングにも有用であることから、将来的な治療法の開発にも貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Symptoms of peroxisome biogenesis disorders (PBD) can be caused by changes in unidentified peroxisomal metabolites and subsequently impaired gene expressions. To explore the mechanisms of PBD pathogenesis, disease model zebrafish and cell lines were used. Experiments with PBD model fish have identified fatty acid species and genes that were specifically affected in PBD. Furthermore, experiments with a PBD model cell line revealed that peroxisomal mosaicism, which is often seen in patients with mild PBD, is caused by cyclical peroxisome biogenesis and degradation. From this research project, part of the pathogenesis of PBD has elucidated.

研究分野：発生生物学 脂肪酸代謝

キーワード：ペルオキシソーム ペルオキシソーム形成異常症 極長鎖脂肪酸 プラズマローゲン PEX遺伝子 ゼブラフィッシュ HEK293細胞

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ペルオキシソーム形成異常症 (Peroxisome biogenesis disorders, PBD) はヒトの先天性代謝性疾患であり、ペルオキシソームの生合成に必要な PEX 遺伝子の変異が原因である。PEX 遺伝子の変異によって、ペルオキシソームの正常な形成が妨げられ、ペルオキシソームが本来持つ様々な代謝機能が影響を受ける。PBD 患者では脳を含む中枢神経の発生異常、白内障や網膜変性などの眼科的症状、肝臓、腎臓の機能障害、骨形成異常など多くの器官に障害が現れる。本疾患は数万人に 1 人程度が発症する指定難病である。

(2) ペルオキシソームでは主に脂質関連物質の代謝が行われている。代表的なものは極長鎖脂肪酸 (炭素数 22 以上の脂肪酸) の分解、フィタン酸、プリスタン酸などの分枝脂肪酸の分解、プラズマローゲン、胆汁酸、ドコサヘキサエン酸 (DHA) の合成などである。また、一部のアミノ酸の分解や活性酸素種の除去も行われている。PBD では、上記の代謝産物が過剰に蓄積したり、著しく欠乏したりするが、それらの異常を起点として病態が発症すると考えられている。しかしながら、現在のところそれらの代謝産物がどのように病態発症にかかわっているのかについてはわかっていない。

2. 研究の目的

ペルオキシソーム形成異常症は原因遺伝子が判明しているものの病態発症の直接的な原因となる代謝産物を含め、病態発症機構の詳細が分かっていない。そのため病態の理解と治療法の開発が困難になっている。本研究はゼブラフィッシュとヒト細胞株を用いて作成した疾患モデルの解析を通して、未解明の原因物質と病態発症機構を明らかにすることで本疾患の病態に関する理解を深め、治療につなげることを目的としている。

3. 研究の方法

(1) 本研究では PBD モデルゼブラフィッシュを研究材料とした。ゼブラフィッシュは発生遺伝学で多用される小型の硬骨魚類である。疾患に関連する遺伝子の多くをヒトと共通して持っており、脊椎動物としての基本的な体構造もヒトと共通であることから、ヒト疾患のモデルとして有用である。また受精卵が体外で発生するために、発生過程を顕微鏡下で継続して観察することができるため、形態学的な異常を追いやす。本 PBD モデルゼブラフィッシュは当研究室において *pex2* 遺伝子を破壊することで作成したものを利用した。

(2) もう一つの疾患モデルとして、HEK293 細胞 (ヒト胎児腎臓由来細胞株) の *PEX3* 遺伝子を遺伝子編集によって破壊した PBD モデル細胞を使用した。完全に *PEX3* 遺伝子の機能を欠く遺伝子変異系統を重症型モデルとして用い、5 アミノ酸欠失によって *PEX3* 遺伝子の機能が低下した系統を軽症型モデルとして用いた。

(3) 疾患モデルフィッシュはヒト患者の病態と同様の表現型を示す。それらについて詳しい解析を行った。遺伝子発現と代謝産物の変動について、それぞれマイクロアレイ法と液体クロマトグラフィー質量分析法解析を用いた解析を行い、病態発症につながる因子を探索した。

(4) 疾患モデル細胞を用いて、LC-MS を用いた脂肪酸やプラズマローゲン等の代謝産物の解析を行った。重症型と軽症型の疾患モデル細胞間の比較を行い、それぞれ特徴的に蓄積または減少する代謝産物を探索し、それぞれの疾患タイプで特徴的に変動する代謝産物の同定を試みた。

(5) また、軽症型の疾患モデル細胞では、ペルオキシソームの数が細胞ごとに異なるモザイクペルオキシソームを生じる表現型を持つことがわかった。このモザイクペルオキシソームが生じる原因について、細胞生物学的なアプローチを用いた検討を行った。

4. 研究成果

(1) 以前の研究で PBD モデルフィッシュ (以下 *pex2* 変異体と記載) では、受精後 1 週間前後から運動能が下がり、死亡率が上昇することを明らかにした。この運動能低下の原因として、神経系の異常または筋肉系の異常が推測された。そこで *pex2* 変異体及び野生型胚を神経のマーカーであるアセチル化チューブリン抗体、または筋肉のマーカーである骨格筋ミオシン抗体およびアクチンフィラメントを染色するファロイジンを使って染色

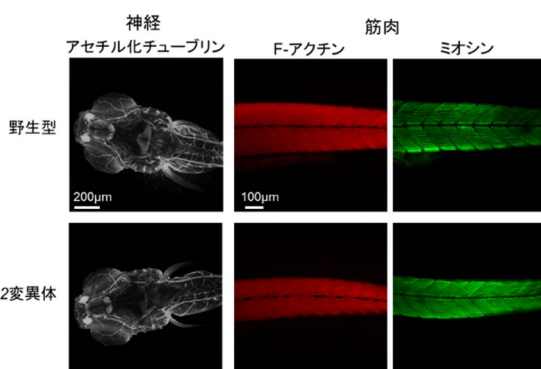


図 1. 野生型と *pex2* 変異体の神経及び筋肉の共焦点レーザー顕微鏡画像。神経は抗アセチル化チューブリン抗体、筋肉はファロイジン (赤) または抗ミオシン抗体 (緑) で染色している。

することで、神経組織と骨格筋組織の異常の有無を検討した。しかしながらいずれの組織においても形態的な異常は観察されなかった(図1)。この結果から運動能の低下の原因はこれらの組織の構造的異常ではなく、機能的な異常に起因することが示唆された。

(2) 神経及び筋肉の機能異常の原因を探るために、トランスクリプトームレベルの解析を行った。*pex2* 変異体では病態発症につながる遺伝子発現変動が起こっていると考えられたため、マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。その結果、神経や筋肉の機能発現に重要なパルブアルブミンやトロポニン遺伝子の発現が野生型に比べ、*pex2* 変異体において顕著に低下していることが判明した(図2)。従って *pex2* 変異体で見られる運動能の低下は、これらの遺伝子の発現減少によって引き起こされていることが示唆された。また、患者では高頻度で白内障が生じるが、*pex2* 変異体では眼のレンズで重要な働きを持つクリスタリン遺伝子の発現も顕著に低下していることが分かった。このことから、PBD 患者に見られる白内障の発症には、クリスタリタンパクの減少が関与していることが示唆された。

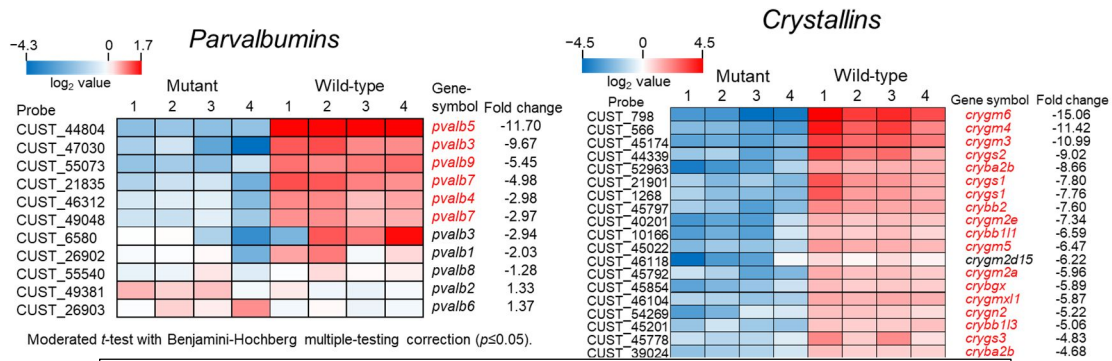


図 2. マイクロアレイによる遺伝子発現解析。クリスタリン(右)とパルブアルブミン(左)の発現変動を示す。いずれも *pex2* 変異体で発現が減少している。

マイクロアレイの遺伝子発現データについてパスウェイ解析で詳細な解析を行ったところ、*pex2* 変異体では生殖細胞の発生、細胞走化性、筋収縮、炎症反応などのパスウェイに関する遺伝子の発現が減少していることが判明した。これらの因子の発現低下が患者で見られる様々な病態に関与していると考えられる。しかしながら本研究期間では、これらの遺伝子発現低下がどのようにしてそれぞれの病態を発症させるかについては明らかにできなかった。今後の検討課題である。

(3) PBD の病態は代謝異常によって蓄積した脂質関連代謝産物によって引き起こされると推測される。運動能の低下を引き起こす代謝産物を明らかにする目的で、運動能が低下する時期における脂肪酸代謝変動について質量分析装置を用いて網羅的に解析し、*pex2* 変異体と野生型間で比較した。その結果 *pex2* 変異体では極長鎖脂肪酸の軽度な増加とともに、多価不飽和脂肪酸の減少が検出された。これらの脂肪酸変動が上記遺伝子の発現変化を誘導するのではないかと仮説を立て、今後はそれらの脂肪酸を投与することで、遺伝子発現変動と運動能低下を引き起こすことができるかどうかを調べる予定である。

(4) 次に疾患モデル細胞を使った研究を行った。*PEX3* 遺伝子に変異を持つ HEK293 細胞を作成して、表現型解析と脂肪酸代謝変動解析を行った。CRISPR/Cas9 による変異導入で *PEX3* の機能が完全に欠失した null 変異型(重症型患者モデル)と一部のアミノ酸のみが欠失した hypomorph 変異型(軽症型患者モデル)の細胞を作成した。重症型と軽症型モデル細胞の間で脂肪酸発現変動を網羅的に比較したところ、重症型では飽和型と多価不飽和型の極長鎖脂肪酸の両方が蓄積していたが、軽症型では多価不飽和型の極長鎖脂肪酸の蓄積はほとんど見られなかった。この蓄積する脂肪酸種の違いが病態の違いにつながっているのではないかと考えられた。

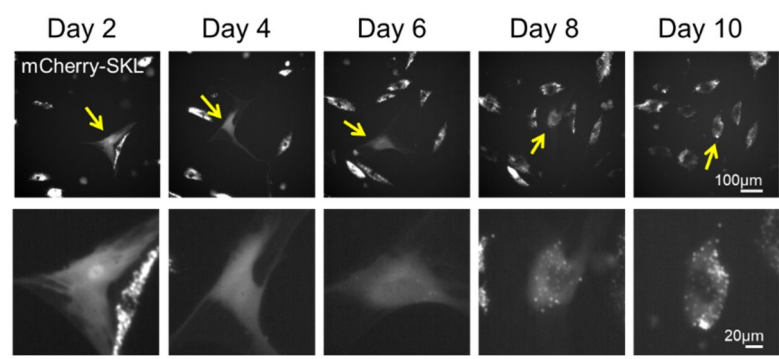


図 3. ヒト患者由来線維芽細胞を用いたタイムラプスイメージング。細胞にペルオキシソーム局在性蛍光タンパク質 (mCherry-SKL) を発現させて観察した。矢印の細胞は、当初はペルオキシソームを持たないが6日目以降にペルオキシソームが細胞内に形成され、数を増やしている。

さらに、軽症型細胞のペルオキシソームを観察したところ、細胞集団内で細胞ごとにペルオキシソームの数が大きく異なる、「モザイクペルオキシソーム」の表現型を呈していた。単一細胞からの培養や、タイムラプスイメージング等で詳細に検討した結果、軽症型細胞では細胞ごとにペルオキシソームが数日間隔の周期で、消失と生成を繰り返していることが明らかになった。軽症型の患者から提供された細胞を使った解析でも同様の現象が観察された(図3)。軽症型モデル細胞についてペルオキシソームをもつ細胞ともたない細胞に分けて、代謝産物をLC-MSで分析した結果、ペルオキシソームをもつ細胞ではもたない細胞に比べ、代謝異常が改善していた(図4)。これらの結果から、モザイクペルオキシソームを示す軽症型患者では、ペルオキシソームの数と代謝機能が細胞単位で変動していることが示唆された。今後は軽症型細胞を用いたスクリーニングを行うことで、ペルオキシソームの生合成を改善する治療薬の候補を得たいと考えている。

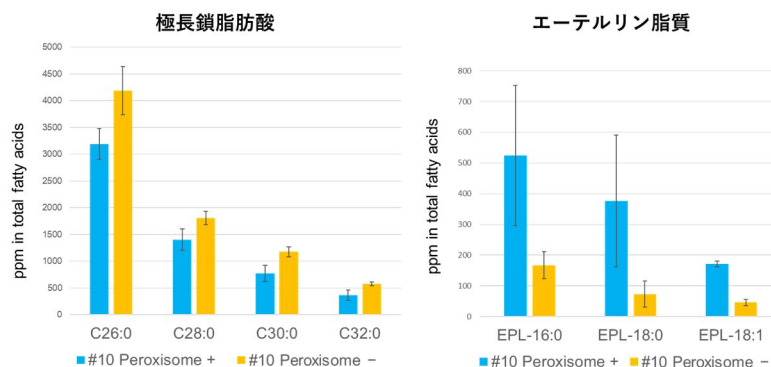


図 4. 軽症型細胞における脂肪酸量の比較。軽症型細胞についてペルオキシソームを持つ細胞集団と持たない細胞集団に分け、LC-MSを用いて脂肪酸を比較した。ペルオキシソームを持たない細胞に比べ、ペルオキシソームを持つ細胞では極長鎖脂肪酸の蓄積が低下し、エーテルリン脂質の合成が回復している。

ペルオキシソーム形成異常症は病態の発症を引き起こす直接的な原因となる代謝産物や遺伝子発現変動が明らかでなく、病態発症メカニズムが不明の疾患である。治療法の開発のためにもそれらの解明が重要であり、本研究では疾患モデルフィッシュと疾患モデル細胞を用いてこの課題に取り組んだ。その結果、これまで明らかでなかった病態発症への直接的関与が示唆される遺伝子群の発現変動や、病型ごとに異なる脂肪酸種の蓄積と減少が明らかになった。また軽症型疾患モデル細胞を用いた解析から、軽症型患者で見られるモザイクペルオキシソームの細胞生物学的病態が、ペルオキシソーム生合成の周期的な変動によって引き起こされることを初めて明らかにできた。今後はこれらの知見を踏まえ、病態発症への関与が疑われる遺伝子発現と脂肪酸変動についてさらなる解析を行い、病態発症メカニズムの全容解明と治療法開発につなげたい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

- Hiroki Kawai, **Shigeo Takashima**, Akiko Ohba, Kayoko Toyoshi, Kazuo Kubota, Hidenori Ohnishi, Nobuyuki Shimozawa. Development of a system adapted for the diagnosis and evaluation of peroxisomal disorders by measuring bile acid intermediates. *Brain & development* 45(1) 58-69 Jan. 2023. DOI: 10.1016/j.braindev.2022.10.001
- Shigeo Takashima**, Haruka Fujita, Kayoko Toyoshi, Akiko Ohba, Yoko Hirata, Nobuyuki Shimozawa, Kentaro Oh-Hashi. Hypomorphic mutation of PEX3 with peroxisomal mosaicism reveals the oscillating nature of peroxisome biogenesis coupled with differential metabolic activities. *Molecular genetics and metabolism* 137(1-2) 68-80 2022. DOI: 10.1016/j.ymgme.2022.07.008
- Shigeo Takashima**, Shoko Takemoto, Kayoko Toyoshi, Akiko Ohba, Nobuyuki Shimozawa. Zebrafish model of human Zellweger syndrome reveals organ-specific accumulation of distinct fatty acid species and widespread gene expression changes. *Molecular genetics and metabolism* 133(3) 307-323 2021. DOI: 10.1016/j.ymgme.2021.05.002
- Nobuyuki Shimozawa, **Shigeo Takashima**, Hiroki Kawai, Kazuo Kubota, Hideo Sasai, Kenji Orii, Megumi Ogawa, Hidenori Ohnishi. Advanced Diagnostic System and Introduction of Newborn Screening of Adrenoleukodystrophy and Peroxisomal Disorders in Japan. *International journal of neonatal screening* 7(3) 2021. DOI: 10.3390/ijns7030058
- Shigeo Takashima**, Kayoko Toyoshi, Takuhei Yamamoto, Nobuyuki Shimozawa. Positional determination of the carbon-carbon double bonds in unsaturated fatty acids mediated by solvent plasmaticization using LC-MS. *Scientific reports* 10(1) 12988. 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-69833-y

〔学会発表〕(計 6 件)

1. **高島 茂雄**, 藤田 遥, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 平田 洋子, 下澤 伸行, 大橋 憲太郎. 「モザイク様ペルオキシソームを生じる PEX3 変異細胞ではペルオキシソームの周期的な合成が起こっている」 第 46 回日本分子生物学会年会. 2022 年 11 月.
2. **高島 茂雄**, 藤田 遥, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 平田 洋子, 下澤 伸行, 大橋 憲太郎. 「軽症型ペルオキシソーム病モデル細胞が示すペルオキシソーム合成の周期的変化と代謝変動」 第 63 回 日本先天代謝異常学会学術集会, 第 18 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 2022 年 11 月.
3. **高島 茂雄**, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行. 「ゼブラフィッシュモデルを使った Zellweger syndrome 病態発症機構の探索」 第 62 回日本先天代謝異常学会 学術集会 2021 年 11 月.
4. **高島 茂雄**, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行. 「ゼブラフィッシュ Zellweger syndrome モデルにおける遺伝子発現変動解析」. 第 62 回日本先天代謝異常学会 学術集会. 2021 年 11 月.
5. **高島 茂雄**, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行. 「LC-MS を用いた不飽和脂肪酸の二重結合位置の同定」. 第 60 回日本油化学学会年会. 2021 年 9 月.
6. **高島 茂雄**, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行. 網羅的脂肪酸分析によるペルオキシソーム病発症因子の探索」第 93 回日本生化学会大会 シンポジウム 3S08a ペルオキシソーム病研究の最前線. 2020 年 9 月.

〔図書〕(計 4 件)

1. **高島 茂雄**, 下澤 伸行. 「ペルオキシソーム病における脂質代謝と治療」. The Lipid 特集 オルガネラと脂質 - 基礎と臨床から - Vol. 32(2) 76-84 2021.
2. 高島 茂雄. 「SCD1 による脂肪酸の不飽和化は X-ALD の発症を阻止するか」. ファルマシア Vol. 57 (12). 1136 2021. DOI: 10.14894/faruawpsj.57.12_1136
3. **Shigeo Takashima**, Nobuyuki Shimozawa. Model organisms for understanding peroxisomal disorders. Peroxisomes: Biogenesis, function, and role in human disease (pp. 137-157). 2021 doi:10.1007/978-981-15-1169-1_6. ISBN:
4. **高島 茂雄**, 下澤 伸行. 「ペルオキシソーム病」. 生体の科学 難病研究の進歩 71(5) 2020.

〔その他〕

ホームページ等

<http://stakashimaj.blogspot.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

研究代表者氏名：高島 茂雄

ローマ字氏名：TAKASHIMA, Shigeo

所属研究機関名：岐阜大学

部局名：糖鎖生命コア研究所 糖鎖分子科学研究センター

職名：准教授

研究者番号(8桁): 50537610

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、研究者個人に帰属されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takashima Shigeo, Takemoto Shoko, Toyoshi Kayoko, Ohba Akiko, Shimozawa Nobuyuki	4. 巻 133
2. 論文標題 Zebrafish model of human Zellweger syndrome reveals organ-specific accumulation of distinct fatty acid species and widespread gene expression changes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism	6. 最初と最後の頁 307 ~ 323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgme.2021.05.002	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 Takashima Shigeo, Toyoshi Kayoko, Yamamoto Takuhei, Shimozawa Nobuyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Positional determination of the carbon?carbon double bonds in unsaturated fatty acids mediated by solvent plasmation using LC?MS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12988
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-69833-y	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 Kawai Hiroki, Takashima Shigeo, Ohba Akiko, Toyoshi Kayoko, Kubota Kazuo, Ohnishi Hidenori, Shimozawa Nobuyuki	4. 巻 45
2. 論文標題 Development of a system adapted for the diagnosis and evaluation of peroxisomal disorders by measuring bile acid intermediates	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 58 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2022.10.001	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 Takashima Shigeo, Fujita Haruka, Toyoshi Kayoko, Ohba Akiko, Hirata Yoko, Shimozawa Nobuyuki, Oh-hashii Kentaro	4. 巻 137
2. 論文標題 Hypomorphic mutation of PEX3 with peroxisomal mosaicism reveals the oscillating nature of peroxisome biogenesis coupled with differential metabolic activities	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism	6. 最初と最後の頁 68 ~ 80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgme.2022.07.008	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 Shimozawa Nobuyuki, Takashima Shigeo, Kawai Hiroki, Kubota Kazuo, Sasai Hideo, Orii Kenji, Ogawa Megumi, Ohnishi Hidenori	4. 巻 7
2. 論文標題 Advanced Diagnostic System and Introduction of Newborn Screening of Adrenoleukodystrophy and Peroxisomal Disorders in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Neonatal Screening	6. 最初と最後の頁 58 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijns7030058	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6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高島 茂雄, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行
2. 発表標題 ゼブラフィッシュモデルを使ったZellweger syndrome病態発症機構の探索
3. 学会等名 第62回日本先天代謝異常学会 学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高島 茂雄, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行
2. 発表標題 ゼブラフィッシュZellweger syndromeモデルにおける遺伝子発現変動解析
3. 学会等名 第62回日本先天代謝異常学会 学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高島 茂雄, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行
2. 発表標題 LC-MSを用いた不飽和脂肪酸の二重結合位置の同定
3. 学会等名 第60回日本油化学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高島 茂雄, 藤田 遥, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 平田 洋子, 下澤 伸行, 大橋 憲太郎
2. 発表標題 モザイク様ペルオキシソームを生じるPEX3変異細胞ではペルオキシソームの周期的な生合成が起こっている
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 2. 高島 茂雄, 藤田 遥, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 平田 洋子, 下澤 伸行, 大橋憲太郎
2. 発表標題 軽症型ペルオキシソーム病モデル細胞が示すペルオキシソーム生合成の周期的変化と代謝変動
3. 学会等名 第63回 日本先天代謝異常学会学術集会, 第18回アジア先天代謝異常症シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高島 茂雄, 豊吉 佳代子, 大場 亜希子, 下澤 伸行
2. 発表標題 網羅的脂肪酸分析によるペルオキシソーム病発症因子の探索
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
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
---------------------------	-----------------------	----

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