

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08582

研究課題名(和文) 糖尿病腎線維化に対する血管平滑筋GLP-1受容体シグナルの役割

研究課題名(英文) Role of vascular smooth muscle GLP-1 receptor signaling in diabetic kidney fibrosis

研究代表者

藤田 浩樹 (Fujita, Hiroki)

秋田大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：30333933

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)：血管平滑筋特異的GLP-1受容体欠損C57BL/6-Akita糖尿病マウスを作製し、腎病変について解析した。血管平滑筋GLP-1受容体シグナルの低下により、腎臓内血管壁における抗酸化作用の減弱から、腎臓内広範囲にわたる酸化ストレスの増加が惹起され、糖尿病性糸球体硬化病変、腎間質線維化ならびに近位尿管上皮細胞内ミトコンドリアの構造変化が進行すること、腎臓内動脈壁における肥厚性変化をきたすこと、アルブミン尿の増加や血圧上昇に関わる腎糸球体内皮および腎臓内血管内皮におけるNOレベルが減少することが明らかとなり、血管平滑筋GLP-1受容体シグナルの腎保護効果が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管平滑筋GLP-1受容体シグナルは慢性の高血糖状態で惹起される酸化ストレスを減少させることで、糖尿病性糸球体硬化病変、腎間質線維化、腎臓内血管壁硬化性変化の進行抑制に寄与することが本研究の成果から明らかとなった。したがって、血管平滑筋GLP-1受容体シグナルを高める介入は糖尿病性腎症のみならず、他の慢性腎臓病の血管病変に対する新規治療戦略として期待されることである。しかしながら、血管平滑筋GLP-1受容体シグナルの腎保護効果の基盤となる詳細な分子メカニズムについては未だ解明の余地があり、今後のさらなる研究の遂行が必要である。

研究成果の概要(英文)：C57BL/6-Akita mice are known to be resistant to the development of diabetic nephropathy. We generated vascular smooth muscle GLP-1 receptor-deficient C57BL/6-Akita mice and investigated their renal phenotypes. Reduction in vascular smooth muscle GLP-1 receptor signaling increased renal oxidative stress via diminished antioxidant defense capacity in renal vascular wall, and accelerated diabetic glomerulosclerosis, renal interstitial fibrosis, structural injury in proximal tubular mitochondria, and renal vascular wall thickening. In addition, vascular smooth muscle GLP-1 receptor-deficient C57BL/6-Akita mice developed moderate albuminuria and exhibited blood pressure elevation, possibly due to reduced nitric oxide levels in renal glomerular and vascular endothelial cells. These findings indicate that vascular smooth muscle GLP-1 receptor signaling exerts renal protective effects in diabetic nephropathy.

研究分野：腎臓病学、糖尿病学

キーワード：糖尿病性腎症 GLP-1受容体シグナル 血管平滑筋 腎線維化 Akita糖尿病マウスモデル

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病患者を対象とした GLP-1 受容体作動薬の Liraglutide と Semaglutide の心血管イベントに対する安全性を検証する試験である LEADER、SUSTAIN-6 において、糖尿病性腎症(腎症)イベントの評価も行われ、LEADER 試験では Liraglutide 投与群での複合腎アウトカムの減少、持続性 Macroalbuminuria の新規発症の抑制が示され (NEJM 2017; 377: 839-848)、SUSTAIN-6 においても Semaglutide 投与群での腎症の新規発症や悪化の抑制が報告された (NEJM 2016; 375: 1834-1844)。このような大規模臨床試験から示された GLP-1 受容体作動薬の腎保護効果を説明する機序の一部を我々はこれまでにマウスを用いた基礎研究から明らかにしてきた。我々は In situ hybridization および RT-PCR の手法を用いて、マウスの腎臓において GLP-1 受容体は糸球体糸状壁と血管壁(内皮~平滑筋)に局在して発現していることを明らかにするとともに (Kidney Int 2014; 85: 579-589)、当研究グループで開発した2種類の非肥満型インスリン欠乏型 Akita 糖尿病マウスモデル、腎症の発症に抵抗性を示す C57BL/6-Ins2Akita (C57BL/6-Akita) と進行した腎症を発症する KK/Ta-Ins2Akita (KK/Ta-Akita) (JASN 2009; 20: 1303-1313) を用いて解析を進めた。C57BL/6-Akita の GLP-1 受容体を欠損させることにより、腎臓内 cAMP/PKA レベルの低下に伴う糸球体酸化ストレスの増加と糸球体病変の進行が観察され、一方で KK/Ta-Akita に Liraglutide の投与を行ったところ、腎臓内 cAMP/PKA レベルの上昇に伴う酸化ストレスの減少と糸球体病変の進行抑制が観察された (Kidney Int 2014; 85: 579-589)。以上より、腎臓内 GLP-1 受容体シグナルはその主要なセカンドメッセンジャーである cAMP のレベルを高めることで、高血糖状態下で増加した酸化ストレスから糸球体を保護する役割を果たしていることが示唆された。

このように GLP-1 受容体シグナルの腎糸球体における保護的役割については明らかとなったが、もう一つの腎臓における GLP-1 受容体の発現部位である血管平滑筋に対する作用については解明されていない。加えて、GLP-1 受容体は腎臓以外の様々な臓器において発現していることを我々は報告しており (J Diabetes Investig 2016; 7: 76-79)、全身性 GLP-1 受容体シグナルの変化は Metabolic factor の変化を介して血管病変の進行や抑制に影響する可能性がある。このような学術的背景から、我々は腎症の発症に抵抗性を示すストレインである C57BL/6 マウスの血管平滑筋において特異的に GLP-1 受容体を欠損させ、さらにこれを Akita 糖尿病マウスにした血管平滑筋特異的 GLP-1 受容体欠損 Akita 糖尿病マウスを作製することにした。この新しいマウスモデルにおいて、腎臓の糸球体硬化病変の進行、血管壁の硬化性変化ならびに間質線維化の進行がみられるのか解析するとともに、GLP-1 受容体シグナルの血管平滑筋に対する作用とその基盤となる分子メカニズムを解明することを目的として研究を遂行した。本研究からの成果は、古典的糖尿病性腎症を含む糖尿病性腎臓病に対する新規治療薬の開発と新たな治療戦略の確立に貢献するものと期待される。

2. 研究の目的

糖尿病状態下での腎臓の血管平滑筋における GLP-1 受容体シグナルが糸球体硬化病変に加え、血管壁の硬化性変化ならびに間質線維化に対して保護的な役割を持つのか解析し、またその分子メカニズムを解明することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 血管平滑筋特異的 GLP-1 受容体欠損 Akita 糖尿病マウスの作製

本研究では、はじめに C57BL/6 マウスストレインの血管平滑筋特異的 GLP-1 受容体欠損マウス (*Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6) を血管平滑筋 (smooth muscle myosin heavy chain: SM) で発現する Cre マウスと LoxP (Floxed) *Glp1r* マウスを用いた Cre-loxP system により作製した。次に、これに同じストレインで腎症発症抵抗性の C57BL/6-Akita 糖尿病マウスを交配することにより *Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスを作製した。SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスをコントロール群とし、*Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスとの比較評価を行った。また、非糖尿病の *Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-wild-type (WT) と SM-Cre C57BL/6-WT マウスも加えた4群間でデータの解析を行った。

(2) *Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスにおける生理学・生化学パラメーターと腎組織病変の解析

体重、収縮期血圧、血糖、HbA1c、糸球体濾過率 (glomerular filtration rate: GFR)、尿中アルブミン等の生理学・生化学パラメーターについて経時的に測定を行った。収縮期血圧の測定には Softron 社 non-invasive tail cuff 測定装置を使用した。GFR の測定には FITC-inulin single injection 法 (我々の研究グループで開発: Diabetes 2005; 54: 2628-2637) を用いた。腎病理組織学的評価のため、30 週齢時に麻醉下で腎臓を摘出し、パラフィンおよび凍結切片を作製した。HE 染色にて腎臓内血管、PAS 染色にて糸球体硬化、Masson trichrome 染色にて間質線維化の状態について評価を行った。また、糸球体糸状壁および近位尿細管の状態を詳細に解析するため、電顕での評価も行った。

(3) 酸化ストレスと腎系球体内皮および腎臓内血管内皮における一酸化窒素 (nitric oxide: NO) の評価

酸化ストレスの状態については、尿中 8-OHdG (8-hydroxy-2-deoxyguanosine) の測定により評価した。腎系球体内皮および腎臓内血管内皮における NO レベルについては、麻酔下での DAF-2DA (diaminofluorescein-2 diacetate) の灌流後に腎臓を摘出し、凍結切片作製後、直ちに共焦点レーザー顕微鏡にて観察し、NO レベルを反映する fluorescence の強度にて評価を行った。

(4) 統計学的解析

データは means ± SEM で表記し、データの統計学的解析は、one-way ANOVA と Bonferroni's multiple comparison test にて行った。P<0.05 を統計学的に有意と判定した。

4. 研究成果

(1) *Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの生理学・生化学パラメーター

Glpr^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウス作製後、30 週齢時まで経時的に観察を行った。30 週齢時における生理学・生化学パラメーターを表 1 に示す。30 週齢時の C57BL/6-Akita 糖尿病マウスにおいて、*Glpr*^{SM-/-} と SM-Cre マウスの間で体重、6 時間空腹時血糖、HbA1c に差はみられなかった。その一方で、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの収縮期血圧は SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスよりも有意に高値であった。SM-Cre C57BL/6-WT 非糖尿病マウスに比して、系球体高血圧を反映した GFR の上昇が *Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita と SM-Cre C57BL/6-Akita の糖尿病マウス両群でみられたが、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの GFR は SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスよりも有意に上昇していた。アルブミン尿についても SM-Cre C57BL/6-WT 非糖尿病マウスに比して、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita と SM-Cre C57BL/6-Akita の糖尿病マウス両群での適度な増加が観察されたが、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスのアルブミン尿は SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスよりも有意に増加していた。また、酸化ストレスマーカーの 8-OHdG の尿中排泄レベルは、SM-Cre C57BL/6-WT 非糖尿病マウスに比して、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita と SM-Cre C57BL/6-Akita の糖尿病マウス両群で高値であったが、興味深いことに SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスに比して、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでの尿中 8-OHdG 排泄レベルの有意な増加が観察された。*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-WT と SM-Cre C57BL/6-WT の非糖尿病マウスの両群間では、上記のパラメーターにおける差はみられなかった。これらの所見は、糖尿病状態下の腎臓内で増加する酸化ストレスは血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルの低下によりさらに増加することを示唆するものと考えられる。

表 1 . 30 週齢時における生理学・生化学パラメーター

パラメーター	C57BL/6-WT		C57BL/6-Akita	
	SM-Cre	<i>Glpr</i> ^{SM-/-}	SM-Cre	<i>Glpr</i> ^{SM-/-}
n	6	6	6	6
体重 (g)	27.9 ± 1.0	28.1 ± 0.3	20.6 ± 0.9 ^a	19.9 ± 0.6 ^a
収縮期血圧 (mmHg)	96 ± 5	95 ± 2	109 ± 2	127 ± 4 ^{a,c}
6 時間空腹時血糖 (mg/dl)	187 ± 10	186 ± 6	599 ± 49 ^a	550 ± 25 ^a
HbA1c (%)	4.2 ± 0.1	4.4 ± 0.1	12.6 ± 0.6 ^a	13.5 ± 0.3 ^a
GFR (μl/min/gBW)	5.0 ± 0.4	5.6 ± 0.3	12.3 ± 0.7 ^a	18.5 ± 2.1 ^{a,d}
尿中アルブミン (μg/24h)	13.8 ± 1.4	9.1 ± 2.2	53.5 ± 6.0 ^b	83.8 ± 10.3 ^{a,c}
尿中 8-OHdG (ng/24h)	3.7 ± 1.6	6.8 ± 2.7	41.0 ± 5.4 ^b	83.3 ± 10.7 ^{a,e}

^ap < 0.001, ^bp < 0.01 vs. SM-Cre C57BL/6-WT.

^cp < 0.05, ^dp < 0.01, ^ep < 0.001 vs. SM-Cre C57BL/6-Akita.

(2) *Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎組織像

30 週齢時における *Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎組織像を図 1 に示す。PAS 染色による解析から、C57BL/6-Akita 糖尿病マウスは腎症発症に抵抗性を示すにも関わらず、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでは SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスに比して、メサンギウム基質の増加や糖尿病性系球体硬化病変の進行が観察された。さらに、Masson trichrome 染色による解析から、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでは軽度の腎間質の線維化が観察された。その一方で、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-WT 非糖尿病マウスでは、メサンギウム基質の増加や腎間質の線維化等の所見は見られず、SM-Cre C57BL/6-WT 非糖尿病マウスと同様な腎組織像を呈していた。電顕による解析では、*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎臓において、系球体基底膜の肥厚や広範囲にわたる足突起の消失、近位尿細管上皮細胞内のミトコンドリアの腫大化や断片化をはじめとする高度の構造変化が観察された (図 2)。一方、SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスではこうした電顕上の変化は軽度であった (図 2)。*Glpr*^{SM-/-} C57BL/6-WT 非糖尿病マウスは電顕上、SM-Cre C57BL/6-WT 非糖尿病マウスと同等な正常の腎電顕所見を呈していた (図 2)。これらの所見は、糖尿病状態下の血管平滑筋 GLP-1 受容体シグ

ナルの低下は糖尿病性腎症の発症進展を促進することを示唆する。

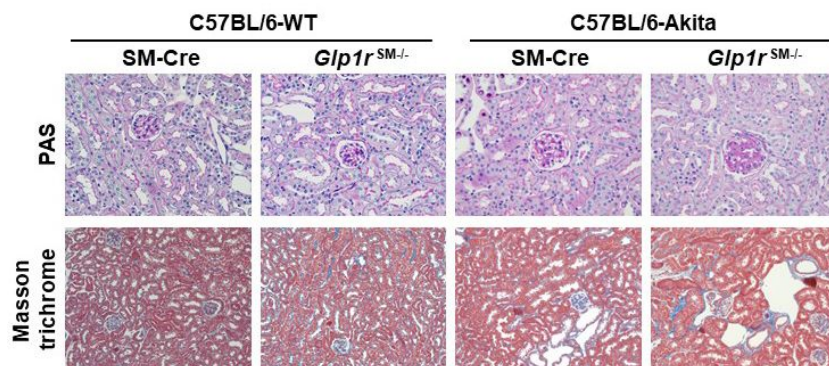


図 1 . 30 週齢時における $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎組織像

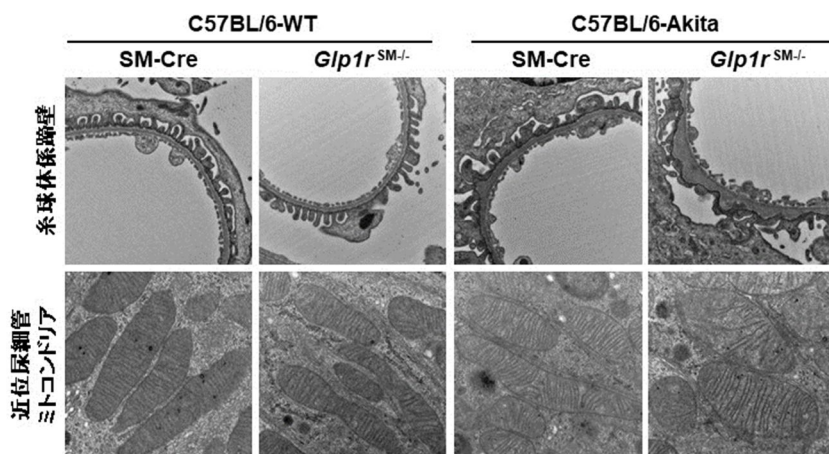


図 2 . 30 週齢時における $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎臓の電顕所見

(3) $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎臓内血管の組織像

30 週齢時における $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎臓内血管の組織像を図 3 に示す。 $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでは SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスに比して、小葉間動脈等の腎臓内血管壁の肥厚性変化が観察された。

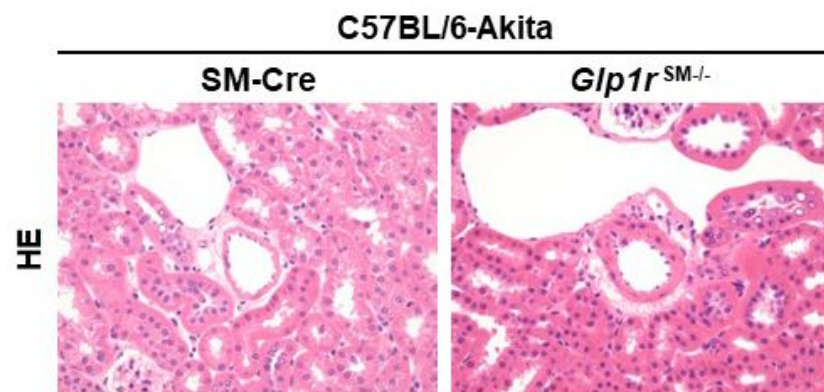


図 3 . 30 週齢時における $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎臓内血管の組織像

(4) $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎臓内 NO レベル

30 週齢時における $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎系球体内皮および腎臓内血管内皮における NO レベルについて DAF-2DA 灌流にて解析を行った (図 4) 。 $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでは腎系球体内皮における NO を反映する fluorescence の強度が極めて減弱しており、NO レベルの低下が示唆された。その一方で、SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎系球体内皮では、SM-Cre C57BL/6-WT 非糖尿病マウスに比して NO レベルの減少がみられたが、 $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでみられたような顕著な NO レベルの減少ではなかった。 $Glp1r^{SM-/-}$ C57BL/6-WT と SM-Cre C57BL/6-WT の非糖尿病マウスの両群においては、腎系球体内皮における NO レベルは同程度に保持されていた。腎臓内血管内皮においても、 $Glp1r^{SM-/-}$

C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでは、SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスに比して NO を反映する fluorescence の強度が減弱しており、NO レベルの低下が確認された。*Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-WT と SM-Cre C57BL/6-WT の非糖尿病マウス両群での腎臓内血管内皮における NO レベルは保たれており、両群間での差はみられなかった。*Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスにおける腎系球体内皮および腎臓内血管内皮の NO レベル低下は、慢性の高血糖状態により増加する活性酸素との反応により多量の NO が消費されたことによるものと考えられる。その一方で、同程度の高血糖状態にありながら、SM-Cre C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでは顕著な腎系球体内皮および腎臓内血管内皮における NO レベル低下はみられなかったが、これらのマウスでは保持されている血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルを介した抗酸化作用により慢性の高血糖状態により増加する活性酸素をある程度除去できているためであると考察される。

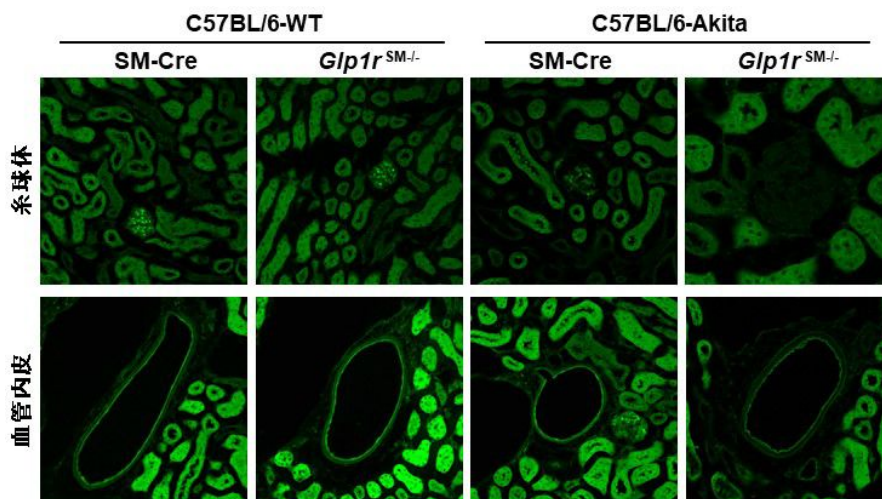


図4 . 30週齢時における *Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの腎臓内 NO レベル

(5) 研究成果のまとめと今後の展望

はじめに、本研究では慢性の高血糖状態下での血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルの低下はそのシグナルを介した腎臓内血管壁における抗酸化作用の減弱を招くことで、腎臓内広範囲にわたる酸化ストレスの増加を惹起することが示唆された。こうした酸化ストレスの増加は、血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルの低下した糖尿病マウスで観察された糖尿病性糸球体硬化病変、腎間質線維化ならびに近位尿細管上皮細胞内ミトコンドリアの構造変化の進行に大きく関わったと考えられる。加えて、同マウスで観察された近位尿細管上皮細胞内ミトコンドリアの腫大化や断片化をはじめとする高度の構造変化により、このような障害されたミトコンドリアからのさらなる活性酸素の産生増加がもたらされ、腎臓全体に活性酸素の増加による酸化ストレスが波及したと考えられる。また、本研究では慢性の高血糖状態下での血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルの低下が腎臓内動脈壁における肥厚性変化を惹起することも示された。したがって、血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルを高めることにより、腎臓の小葉間動脈から輸入細動脈における硬化性変化や機能的障害を抑制し、間質の血流保持と線維化抑制に寄与する可能性も期待できる。さらに、我々は慢性の高血糖状態下での血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルの低下が腎系球体内皮および腎臓内血管内皮における NO を減少させることを明らかにした。腎系球体内皮における NO の減少は内皮機能の低下から血漿タンパクの透過性を亢進しアルブミン尿の増加につながることを報告されており、本研究で観察された *Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでのアルブミン尿の増加に大きく寄与したものと考察される。腎臓内血管内皮における NO の減少は同様に内皮機能の低下から血管拡張障害や血管壁の硬化性変化につながるものが広く知られており、加えて *Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスの血管内皮における NO の減少は全身性に惹起されていることが期待される。本研究で観察された *Glp1r*^{SM-/-} C57BL/6-Akita 糖尿病マウスでの収縮期血圧の上昇は、こうした血管内皮における NO の減少に伴う変化と考察される。

おわりに、血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルは慢性の高血糖状態下で惹起される酸化ストレスを減少させることで、糖尿病性糸球体硬化病変、腎間質線維化、腎臓内血管壁硬化性変化の進行抑制に寄与することが本研究の成果から明らかとなった。したがって、血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルを高める介入は糖尿病性腎症のみならず、他の慢性腎臓病の血管病変に対する新規治療戦略として期待されることである。しかしながら、血管平滑筋 GLP-1 受容体シグナルの腎保護効果の基盤となる詳細な分子メカニズムについては未だ解明の余地があり、今後のさらなる研究の遂行が必要である。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 藤田浩樹	4. 巻 5(8)
2. 論文標題 GLP-1の腎保護効果	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 83-86
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 無
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 藤田浩樹	4. 巻 48(2)
2. 論文標題 糖尿病性腎症における血管平滑筋GLP-1受容体シグナルの役割	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 41-43
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 無
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5件（うち招待講演 5件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤田浩樹
2. 発表標題 高齢者糖尿病の併発症（認知症、サルコペニア）とその治療の展望（シンポジウム）
3. 学会等名 第57回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤田浩樹
2. 発表標題 GLP-1受容体作動薬の糖尿病性腎臓病治療にもたらす光明（教育講演）
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田浩樹
2. 発表標題 糖尿病性腎症におけるGLP-1受容体作動薬の腎保護効果（シンポジウム）
3. 学会等名 第29回創薬薬理フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田浩樹
2. 発表標題 GLP-1受容体作動薬の腎保護効果（シンポジウム）
3. 学会等名 第32回日本糖尿病性腎症研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田浩樹
2. 発表標題 DKD新規治療戦略としてのインクレチン関連薬への期待（シンポジウム）
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

秋田大学大学院医学系研究科 代謝・内分泌内科学講座ホームページ
<http://www.med.akita-u.ac.jp/~rounen/index.html>

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