

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：63904

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02494

研究課題名(和文) 着床時に胚軸を子宮軸に一致させる子宮内膜上皮の形態変化

研究課題名(英文) Morphological changes during the alignment of embryonic and uterine axes

研究代表者

藤森 俊彦 (Fujimori, Toshihiko)

基礎生物学研究所・初期発生研究部門・教授

研究者番号：80301274

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類の母親の組織と胚の組織からなる胎盤は、子宮につながる血管の存在する子宮間膜側(M側)に形成され、栄養交換が効率良く進むように配置される。マウスでは、受精後4.5日目には胚が子宮に着床し、将来胎盤が形成される位置に合うように胚の向きは決まる。3次元再構築画像や透明化した組織の画像を用いて着床時の胚と子宮との関係を組織学的に詳細に観察し、受精後4.0日目から4.5日目にかけての12時間に胚、子宮のいずれに関しても大きく形態が変化し、子宮内腔の閉鎖、胚の伸長、着床室の形成により胚軸が子宮軸に一致して着床が成立することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトを含む哺乳類の大きな特徴の一つは、その発生が母親の子宮の中で進むことにある。卵管で受精し胚盤胞まで進んだ胚は子宮に着床する。メスの子宮の中でおきるこの重要なイベントについては、アクセスが困難であることから未解明のことが多い。そこで、比較的容易に子宮内への胚を解析することができるマウスを用いて、着床の詳細な解析を行った。特に子宮につながる血管と胚の間に着床後の胚の発生を支える胎盤が形成されるが、その位置関係がどのように決められるかについて理解が大きく進んだ。

研究成果の概要(英文)：In mammalian development, the placenta, composed of mammalian maternal and embryonic tissues, forms on the mesometrial side (M-side), where blood vessels connect to the uterus exist, for the efficient exchange of nutrients between the mother and the fetus. In the mouse, the embryo implants in the uterus 4.5 days after fertilization, and is oriented so that the future placenta will form on the M-side. The morphologies and the relationship between the embryo and the uterus during implantation were histologically analyzed in detail using 3D reconstructed images and images of cleared tissues. We found that the morphology of the uterus changes significantly, the luminal closure, the elongation of the embryo, and the formation of an implantation chamber, resulting in the embryonic and uterine axes are aligned to complete implantation.

研究分野：発生生物学

キーワード：Implantation Axis Uterus mouse

1. 研究開始当初の背景

母親の胎内で胚発生が進むことは哺乳類の大きな特徴である。胚(胎児)が胎盤を介して発生に必要な栄養を得ると共に老廃物等を母親に戻す栄養交換を行い胚発生が進行する。母親の組織と胚の組織からなる胎盤は、子宮につながる血管の存在する子宮間膜側(M側)に形成され、栄養交換が効率良く進むように配置される(図1)。将来胎盤が形成される位置に合うように、着床時に胚の向きは決まる。マウスでは、受精後3.5日目(E3.5)に胚は卵管から子宮へと移動し、卵膜である透明帯からハッチし、子宮内膜上皮との直接の相互作用を開始する。独自に開発した切片からの3次元再構築技術を用いて着床時の胚と子宮との関係を組織学的に詳細に観察し、E4.0から

E4.5にかけての12時間に胚、子宮のいずれについても大きく形態が変化することを見いだした。

着床時の胚は胚盤胞と呼ばれ、ICMの存在する側(E側)とその反対側(Ab側)の胚軸が見られる。着床室が形成された

E4.5には子宮のM-AM

軸と胚のE-Ab軸が一致していることを発見した。そこで、胚の周辺領域で特異的に起きる胚軸の配置に関わる子宮内膜上皮の形態変化がどのように実現されるかが、本研究の中心的な問いである。

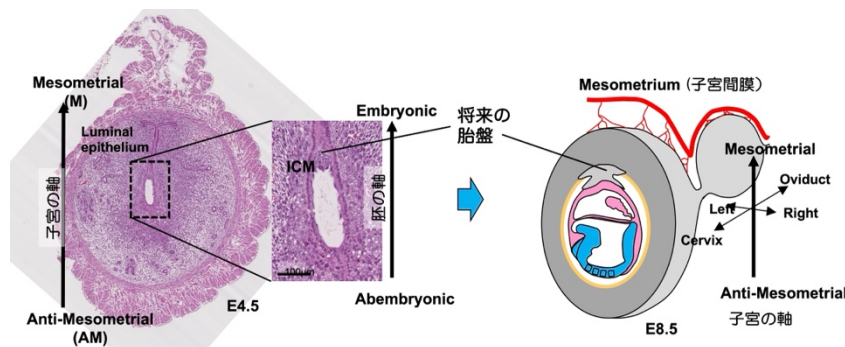


図1. 着床が終了時には将来の胎盤は子宮間膜側に配置される

2. 研究の目的

マウスのE4.5までの着床時における胚軸を子宮軸に一致させる子宮内膜上皮の形態変化の実態と、その要因となる分子機構を解明することが本研究の目的である。目的を達成するために研究の方法に記述する項目の研究を行った。

3. 研究の方法

1) 受精後着床時の妊娠マウス子宮内における子宮のM-AM軸に対する胚盤胞のE-Ab軸の向きの解析

E3.75からE4.5まで6時間インターバルでサンプリングを行い、子宮のM-AM軸と子宮の長軸に沿う面及び子宮の断面に沿ってそれぞれPFA固定、パラフィン包埋した後連続切片を作製し、HE染色を行った。これらのプレパラートをスライドスキャナを用いて画像化した後に、胚の周りのROIを切り出し、それぞれから立体再構築を行った。これらの立体画像を用いて以下の項目について定量的に解析した。

1a) 着床時の胚盤胞の形態の変化の解析

1a) 胚盤胞のどの領域で子宮内膜上皮に接触を開始するか

1b) 着床時の胚盤胞の形態と子宮内での胚軸の関係の解析

1c) 着床室の深さと胚軸の向きとの関係

また、1d) 胚盤胞の形態変化は子宮内腔閉鎖を必要とするか?を問うために、子宮閉鎖が起きないことが知られている遅延着床を誘導した子宮を組織学的に解析した。

更に、1e) 伸長した形状の胚自身が子宮内で積極的に回転するか?を明らかにするために、胚の代わりに脱落膜反応を誘導することが知られているConAでコートしたアガロースビーズを偽妊娠マウスに移植し、ConAビーズの子宮内でどのように分布するか組織切片を用いて確認した。

2) 着床室形成を駆動する細胞動態の変化の解析

2a) 上皮細胞形態および上皮細胞配置の解析

着床室の形成が起きる際には、上皮細胞の増殖や細胞死は観察されていない。そこで、個々の上皮細胞の細胞形態が変化するか、あるいは上皮細胞の相対的位置関係が変更されることによりグローバルな上皮組織の形態の変化が引き起こされることが予想された。そこで、アドヘレンスジャンクションにGFPを局在させ上皮細胞のアピカル付近の細胞境界を可視化するために、PLEKHA7-GFPをユビキタスに発現するR26PLEKHA7-GFPのメスマウスを野生型のオスと交配し、着床期に回収した子宮を子宮長軸に沿って開き、子宮内腔面を露出してコンフォーカル顕微鏡を用いて撮影を行った。これらの画像を定量的に解析し、胚の周辺部分とそれ以外の部分でそれぞれ

れ細胞形態および、M-AM 軸に沿って並んだ上皮細胞数の解析を行った。

次に、2b) 上皮細胞以外の子宮組織による影響を検証するために、Edu の取り込み及び Ki67 の染色により脱落膜反応が起きている胚周辺の間質細胞が特異的に増殖している可能性を検証した。更に、アフィディコリン投与により細胞増殖を抑制した際の着床室形成への影響を透明化処理を行った子宮で確認した。また、筋層が収縮する影響を確認するために、筋弛緩を誘導することができるサルブタモールで処理した際の着床室の形成を確認した。

3) 着床時に見られる子宮内腔閉鎖機構の解析

まず、3a) トランスアピカル領域は機械的に連結するか? を検証するために、ビブラトームを用いて E4.5 の子宮から厚さ約 300 μm の切片を作製し、ピンセットで左右両側をつまみ、トランスアピカル領域を開く力を加えた。その後の変化を実体顕微鏡で撮影し、どの組織のどの領域が破断されるかについて解析した。

次に、3b) 光学顕微鏡及び電子顕微鏡観察による連結様式の解析のために、E4.5 の子宮上皮のトランスアピカル領域に既知の細胞接着に関わる分子、細胞骨格系のタンパク質が局在するか免疫染色によって調べた。更に、透過型電子顕微鏡による観察によりトランスアピカル領域の詳細な形態を解析した。

次に、3c) トランスアピカル領域の結合に関わる分子を検索することを目指して、非妊娠および E4.5 の子宮の内腔にビオチン化試薬を注入し、内腔上皮のアピカル面を特異的に標識した後、アビジンを用いたプルダウンによりタンパク質を回収し、質量分析にかけた。得られた候補分子については免疫染色により、分子の局在を確認した。

更に今回確認されたトランスアピカル領域の機械的連結が、3d) 子宮内膜上皮以外に類似の機構が存在するか確認するため、マウス胚の神経管閉鎖領域をファロイジン染色し、観察を行った。

4. 研究成果

1) 受精後着床時の妊娠マウス子宮内における子宮の M-AM 軸に対する胚盤胞の E-Ab 軸の向きの解析

1a) 着床時の胚盤胞の形態の変化の解析

E4.0 においては、子宮内での胚の形状は球状に近く、Aspect Ratio (AR) の平均は 1.5 よりも小さかったが、E4.25 及び E4.5 においては AR の平均はそれぞれ 2.0 から 2.5 と大きくなった。この際に単軸はこの間に大きくは変化しないが、長軸を比べると E4.0 においては 100 μm 付近であったが、E4.5 には 250 μm まで伸長していた。つまり、着床時期には胚は球状から伸長することが明らかになった。(図 2)

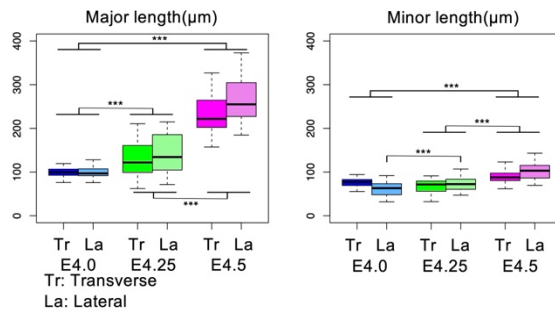


図2. 各段階における横断面 Tr、横面 La から測定した胚盤胞の長軸長、短軸長さ

1a) 胚盤胞のどの領域で子宮内膜上皮に接触を開始するか

E3.75、E4.0、E4.25 及び E4.5 の段階で胚の周辺領域において子宮上皮との間に空間がみられるか調べた。空間が 1 μm 以下の領域を接触領域と定義した。また、その際に胚の ICM 領域の TE (Polar TE) とそれ以外の領域 (Non-polar TE) とのいずれで接触しているかを調べた。E3.75 には約 40% の胚が子宮上皮と接触を開始していたが、E4.0 には 75% 以上の胚において接触が見られ、E4.25 及び E4.5 においては全ての胚が接触していた。子宮上皮と接触が見られたそれぞれの胚で子宮上皮と接触している領域を調べたところ、どの時期を見ても Non-polar TE 領域では接触していても Polar TE が接触していない胚が見られた一方、Polar TE のみで接触していた胚は見られなかった。以上の結果から、子宮内膜上皮との接触は胚の Non-polar TE で先行して起きることが示唆された。また、E4.0 においては、Non-polar TE が接触している付近の子宮内膜上皮で特異的に脱落膜反応のマーカである PTGS2 の発現が見られ、胚と子宮上皮との局所的な相互作用が開始されていることが示唆された。

1b) 着床時の胚盤胞の形態と子宮内での胚軸の関係の解析

E4.5 には ICM が子宮の M 側を向いている。胚の E-AB 軸と子宮の M-AM 軸の間の角度を測定した。E4.0、E4.25 と比較すると、E4.0 において角度はほぼランダムな分布を示していたが、E4.25 においては既に角度が 0 度付近である胚がそれなりの数見られた。そこで、胚の長軸の長ささと角度の関係を調べた (図 3)。長軸の長い胚においては、角度が 30° 以下になる傾向であった。以上から伸長した胚の E-Ab 軸は子宮の M-AM 軸に近づく傾向があることが示された。

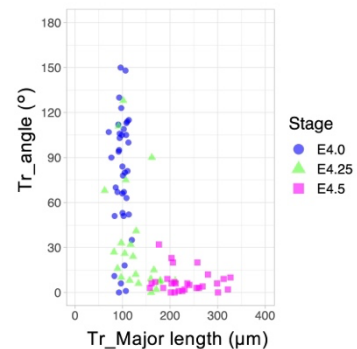


図3. 長軸長と角度の関係

1c) 着床室の深さと胚軸の向きとの関係

次に子宮内膜上皮の M-AM 軸に沿った長さを胚の存在する領域と胚から 200 μ m 離れた領域の間で差をとり、その長さを着床室の深さと定義した。着床室 E3.75 から E4.5 にかけて深さを増した。着床室の深さと胚の AR の関係を調べると緩やかな相関が見られ、深い着床室に存在する胚は子宮との角度が小さい傾向が見られた (図 4)。上記の結果から着床室が深くなる際には、胚は伸長し、子宮の向きに沿うようになることが示唆された。

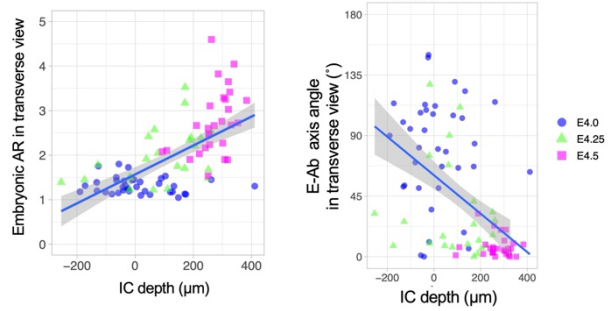


図4. 着床室の深さと胚盤胞の AR, 角度との関係

1d) 胚盤胞の形態変化は子宮内腔閉鎖を必要とするか?

上記の結果は、胚が子宮内膜に取り囲まれ、子宮内腔が閉鎖する際には胚盤胞が伸長していることが考えられ、胚盤胞は子宮からの圧力によって内腔に沿って伸長することが想像された。そこで、妊娠し胚盤胞が存在しても子宮内腔の閉鎖が見られない Lif を欠損する遅延着床状態の子宮を調べることとした。受精後 4.5 日目及び 7.5 日目の Lif 変異体の子宮を調べると子宮内腔は閉鎖していなかった。一方で、胚は透明帯からハッチしており、伸長した胚盤胞の段階であり、伸長した胚盤胞の長軸端に ICM が存在していた。この結果は、胚盤胞は子宮内腔閉鎖による子宮内膜上皮からの圧力を受けない場合においても、伸長した形態を取ることが示された。

1e) 伸長した形状の胚自身が子宮内で積極的に回転するか?

上項の結果からは胚は自律的に伸長し、伸長した形態を取ったことにより子宮内腔と平行になるように存在する可能性が考えられる。胚のように外から力が加わった際に変形する物体であるとこの可能性と外圧によって変形した可能性を区別することができない。そこで胚盤胞よりはるかに固く変形しにくい物体を妊娠初期の子宮に置くことを考えた。この目的のために、偽妊娠マウスに移植した際に脱落膜反応を誘導できる ConA でコートしたアガロースビーズを移植した。移植されたビーズの多くは子宮内で単体で存在し、その周辺で脱落膜反応がおき、子宮内腔が閉鎖した。いくつかの例において、ビーズが一箇所に 2 つ以上近接して存在することが見られた。このような場合においては、ビーズが子宮の M-AM 軸に沿って 2 つならんでいた。この結果は、ビーズのような変形が難しい物体が繋がって分布した際には、伸長した胚と同様に M-AM 軸に沿うように配置されることを示唆している。つまり、伸長した胚は子宮内腔に沿うようになり、結果 M-AM 軸に平行になることが考えられた。

以上の結果をまとめて胚軸と子宮軸を一致させる機構として以下のモデルが考えられた。胚盤胞が透明帯からハッチし、子宮内で等間隔に配置されると、子宮内腔の閉鎖が開始される。その際子宮内腔の AM 側に存在する胚は、Mural TE 側で子宮内膜上皮との接触を開始し、子宮内膜上皮では PTGS2 の発現が開始される。その後胚盤胞は伸長し、伸長した一方に ICM が限局する。子宮内膜上皮と mural TE は接着を維持した状態で、PTGS2 を発現する領域の子宮内腔上皮が AM 側に突出し、着床室が形成される。この際に伸長した胚盤胞の mural TE 側の長端部は AM 側に位置することになり、結果として ICM が M 側を向くことになる。つまり、胚と内膜上皮の接着を維持したまま、胚が伸長することにより胚軸が子宮の軸に一致するようになるというモデルである。(図 5)

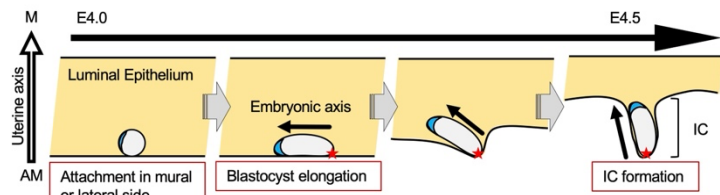


図 5.着床時に胚軸と子宮の軸の向きが一致するモデル

2) 着床室形成を駆動する機構の解析

次の疑問はどのような機構によって、着床室が形成されるかである。着床に向けて上昇するエストロゲンとプロゲステロンの働きにより、胚を受け入れる状態が整った状態の子宮に胚が到達し、胚の周辺領域に特異的に子宮内膜上皮が変形することで着床室が形成される。この子宮内膜上皮の変形が上皮自身が自律的に変形する可能性と上皮以外の子宮の組織である平滑筋層の局所的な収縮あるいは子宮上皮組織を取り巻く間質細胞の局所的な増殖により、着床室周辺領域の上皮組織が収縮することによって、着床室の突出ができる可能性が考えられる。そこで、この 2 つの可能性をそれぞれ検証した。

2a) 上皮細胞形態および上皮細胞配置の解析

E4.5 の R26PLEKHA7-GFP メスの子宮を解析し、細胞の形態を確認した。胚の周辺領域においては、上皮細胞は M-AM 軸に沿って伸長し、胚から M 側に離れた領域では上皮細胞のアピカル面が縮小していた。更に胚から子宮の長軸に沿って 200 μ m ほど離れた領域 (AIS) においては、上皮細胞は長軸に沿って伸長していた。更に、M-AM 軸に沿ってそれぞれの領域において細胞数を数えたところ、着床室領域では AIS に比較して細胞数が少なかった。上皮層において着床時に細胞死や細胞増殖が見られないことから、上皮細胞の形態変化と上皮細胞の配置換えの相乗効果によ

り着床室が形成されることが予想された。

2b) 上皮細胞以外の子宮組織による影響

子宮の最外層に存在する筋層を弛緩させるサルブタモール処理を行った際に着床室の形成が栄養を受けるかを透明化した子宮をライトシート顕微鏡で観察して調べた。サルブタモール処理によって、子宮がやや伸びた状態になっており、筋層が弛緩されたことが示された。一方で、着床室自身はこの状況でも形成されていた。次に着床時の子宮を Ki67 で染色した結果、着床室を取り巻くように子宮間質が Ki67 陽性となった。更に着床時に Edu を取り込ませた子宮を観察したところ、同様に胚を取り巻くように子宮間質に Edu が取り込まれていた。このことから胚の存在する部分から離れた領域で同心円状に間質細胞が増殖することにより、子宮内膜上皮が圧縮されている可能性が示唆された。そこで、アフィディコリン処理によって細胞増殖を抑制して、着床室の形成に異常がみられるかを検証した。しかし、アフィディコリン処理した際にも着床室の形成は抑制されていなかった。現状では、間質細胞の増殖が着床室の形成に及ぼす効果に関しては十分に判定できていない状況である。

3) 着床時に見られる子宮内腔閉鎖機構の解析

着床時の子宮を観察している際に、子宮内腔が閉鎖した際に、向かい合う内膜上皮同士がアピカル面で機械的に連結していることが想像された。そこで以下の項目を検討した。

3a) トランスアピカル領域は機械的に連結するか？

E4.5 の子宮内腔閉鎖された子宮をビブラトームを用いて 300 μ m 程度の厚さに横断切片を作製した後に、ピンセットでつまみ、子宮を左右に引っ張る力を加えた際の子宮の間質、内膜上皮の変化を観察した。最初に間質の領域が広がり、その後内膜上皮のトランスアピカル面が破断し、ジッパーを開くように開いていく様子が観察された。この際に、上皮層の基底層に空間ができることは観察されなかった。このことから、子宮内腔が閉鎖した際にはトランスアピカル領域は機械的に連結しており、その連結力は他の領域よりも弱いことが示唆された。

3b) 光学顕微鏡及び電子顕微鏡観察による連結様式の解析

トランスアピカル領域の連結様式を理解するために、カドヘリン、 α カテニンおよびファロイジンで染色した結果、トランスアピカル領域にはカドヘリン及びカテニンは存在しないが、アクチン繊維が濃縮されていることが判明した。非妊娠の内膜上皮のアピカル面にはアクチンに富む微絨毛が存在することから、微絨毛が変形したことが予想された。更に詳しい構造を調べるために、電子顕微鏡による観察を行った。その結果、予想された微絨毛は観察されず、不定形に細胞膜が複雑に絡み合った未知の構造が観察された。このことから、子宮内腔が閉鎖された後には未知のトランスアピカル連結する構造が存在することが示された。

3c) トランスアピカル領域の結合に関わる分子の検索

未知の構造の基盤となる分子を同定するために、子宮内膜上皮のアピカル面に存在するタンパク質を同定するために、ビオチン標識後に質量分析により解析した。非妊娠と E4.5 のサンプルを比較したところ、ファイブロネクチン、コラーゲンなどの ECM タンパク質、それらの受容体となるインテグリン、タイトジャンクションの構成タンパク質など予想外の分子群が E4.5 で観察された。そこで、これらのタンパク質の局在を免疫染色によって確認したところ、確かに着床時期に特異的にこれらのタンパク質がトランスアピカル領域周辺に局在することが確認された。つまり通常は上皮細胞の基底側に存在するタンパク質がアピカル領域に局在し、更にタイトジャンクション構成タンパク質がリクルートされ、新奇構造を形成することが示唆された。

3d) 子宮内膜上皮以外に類似の機構が存在するか

着床時の子宮内膜上皮のアピカル側で形成される機械的連結機構が他の組織でも共通しているかを検証することとした。細胞のアピカル面同士が接触する現象は、神経管の閉鎖、口蓋の癒合、神経網膜と色素上皮の結合などが知られている。この内口蓋の癒合や神経網膜に関してはカドヘリンなどが関与する可能性が報告されている。そこで、神経管の閉鎖時を調べることにした。マウスの E9 周辺の神経管が閉鎖するタイミングを探し、ファロイジンで染色した後に上皮細胞同士が接触する領域を観察した。子宮内腔閉鎖の状況とは異なり、この領域にアクチン繊維が濃縮されることはなかった。現状では他の組織で類似したトランスアピカルの連結機構は見いだせていない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Koyama Hiroshi, Suzuki Makoto, Yasue Naoko, Sasaki Hiroshi, Ueno Naoto, Fujimori Toshihiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Differential Cellular Stiffness Contributes to Tissue Elongation on an Expanding Surface	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 10:864135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcell.2022.864135	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 Sakurai Jun, Kinoshita Noriyuki, Otani Tetsuhisa, Koyama Hiroshi, Furuse Mikio, Fujimori Toshihiko	4. 巻 -
2. 論文標題 Mechanical transapical coupling of endometrial epithelial cells during implantation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BioRxiv	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） 10.1101/2023.12.12.571398	査読の有無 無
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 Jun Sakurai, Sanae Oka, Yoko Higuchi, Sonoko Ohsawa and Toshihiko Fujimori	4. 巻 12
2. 論文標題 Effects of blastocyst elongation and implantation chamber formation on the alignment of the embryonic axis and uterine axis in mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 2024.142122
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcell.2024.142122	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5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Jun Sakurai, Youko Higuchi, Azusa Kato, Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 Remodeling of the luminal epithelium of the uterus during implantation of mouse embryos
3. 学会等名 55th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 Trans-Scale Polarity Formation in the Mouse Oviduct
3. 学会等名 COS symposium 2022 Building Functionality - The Relevance of Form Across Biological Scales (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun Sakurai, Youko Higuchi, Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 Morphological changes of uterine epithelium during mouse implantation
3. 学会等名 第54回 日本発生生物学会年会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sanae Oka, Ayumi Hamano, Timothy Day, Yoko Higuchi, Dongbo Shi, Jun Sakurai, Seiichi Uchida, Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 Reconstruction of 3D structures from serially sectioned histological slides after automated ROI detection and fine alignment
3. 学会等名 第54回 日本発生生物学会年会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 Morphological changes of the uterine luminal epithelium during mouse implantation
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

基礎生物学研究所・初期発生研究部門
<http://www.nibb.ac.jp/embryo/>

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