

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02969

研究課題名(和文) デング熱感染回復期の細胞障害性T細胞抗原受容体レパトアのシングルセル解析

研究課題名(英文) Single cell analysis of TCR genotypes of CTL at recovery phase of acute Dengue infection

研究代表者

平山 謙二 (Hirayama, Kenji)

長崎大学・熱帯医学・グローバルヘルス研究科・教授

研究者番号：60189868

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：デング熱のワクチン開発に資することを目的とした。フィリピン研究所と協力し、ヒトの急性感染による細胞障害性T細胞の活性化および免疫記憶獲得動態をシングルセル解析により観察した。約20名の血液ドナーの、外来訪問時、退院後1か月、および退院後3か月の3回の末梢血中単核球を凍結保存し、重症化に対する感受性抵抗性アレルであるHLA-A\*2402, A\*2407を有するドナーを4名選択し、シングルセルmRNA発現解析実験に供した。その結果、CD8T細胞レセプターの配列により主要なクロナタイプが各ドナーに存在し、急性期および回復期のmRNA発現レベルの動態を解析することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界的に流行するデング熱に対するワクチン開発は急務である。理想的なデングワクチンには、4つの血清型に対して十分な抗体価を付与することと、重症化を促進しないことが求められる。これまで、抗体依存性の防御免疫については、中和抗体やウイルス感染促進抗体の存在や測定法が明らかにされているが、細胞性免疫による防御効果についてはいまだ明らかになっていない。そこで急性感染時のウイルス特異的細胞障害性T細胞の詳細を明らかにするためにシングルセルmRNA発現解析法を行った。その結果、各ドナーには主要なT細胞レセプター配列型(クロナタイプ)を持った複数のクローンが存在し、量的質的な解析が可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：The aim was to contribute to the development of a dengue vaccine. In collaboration with a laboratory in the Philippines, the activation and immunological memory acquisition kinetics of cytotoxic T cells by acute patients were observed by single-cell analysis. Mononuclear cells in the peripheral blood of approximately 20 blood donors were cryopreserved at three times - during outpatient visits, one month after discharge and three months after discharge - and four donors with HLA-A\*2402 and A\*2407, susceptible and resistant alleles for severe dengue, were selected for the single-cell mRNA expression analysis experiment. The results showed that major clonotypes were present in each donor according to the CD8 T-cell receptor sequences, allowing analysis of the dynamics of mRNA expression levels during the acute and convalescent phases.

研究分野：寄生虫学(含衛生動物学)

キーワード：デング熱 ワクチン開発 ヒト免疫応答性 細胞障害性T細胞 重症型デング熱 T細胞レセプター遺伝子 T細胞レパトワ解析 シングルセルmRNA発現解析

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

- (1) SARS コロナウイルス 2 型 (COVID19) 感染症が中国で発生し、またたく間に世界中で感染爆発 (パンデミック) の状態となった 2021 年度に研究を開始した。予定していたフィリピンでもマニラを中心にロックダウンや自宅就労が徹底され、それまで猛威を振るっていたデング熱の患者は激減し (あるいは全く把握されない)、医療機関の非常事態体制によって、デング熱の患者のリクルートに大きな障害となっていた。
- (2) 上記の状況は COVID-19 ワクチンの迅速な施行や病態の解明、変異ウイルスの解析強化などにより次第に改善傾向となり、コロナ後の準備へと関心が向けられるようになった。2021 年から 2022 年にかけて、デング熱についても、増加傾向にあることが示され、世界的にデングワクチンの研究開発に理解が得られるような環境へと回復した。
- (3) 共同研究機関であるフィリピン熱帯医学研究所 (Research Institute of Tropical Medicine (RITM)) はフィリピン保健省直轄の国立の研究所であり、特に風土病を中心とした感染症分野で日本との研究交流を長年にわたって続けており、直接の共同研究者である Mario Giz 博士は免疫研究部の部長で、長崎大学熱帯医学研究所の平山教室で研修を行った経歴がある。同研究所の分子生物研究部の Edelwisa Mercado は平山教室で博士号を取得したが、研究テーマはデング熱重症化の遺伝背景についてであり、市内の小児病院の患者を対象に彼らの HLA 型を DNA タイピング法で解析し、重症患者での HLA-A\*3301 アレル頻度の顕著な減少がみられ、重症化に抵抗性に働く遺伝子である可能性を指摘し論文として公表した。このアレルについては、以前にベトナムにおける同様の研究においても支持される結果であった。
- (4) デング熱の重症化の要因については多数の研究報告がなされており、4 つの主要な血清型 DEN1-4 のうち、2 型が病原性が高いという報告や、血清型の異なるウイルスに再感染し発症した場合に重症化のリスクが上昇すること、さらにそのメカニズムとして抗体依存性ウイルス感染促進効果 (Antibody dependent Enhancement: ADE) が働き、この抗体を高いレベルで産生する個体で感受性が高まることなどが知られていた。それ以外に T 細胞の関与する細胞性免疫の過剰反応によるサイトカインストームという現象が重症化に重要であるとする研究もあった。しかし、以上のような研究はあくまでも仮説の域を出るものではなく、唯一確実なのは、同じ血清型に再感染することが中和抗体により阻止されていることだけであった。
- (5) デング研究を困難にしている一つの理由に実験動物モデルが確立されていないことがあった。現在インターフェロン受容体欠損マウスが唯一デング感染モデルとして使用されるようになったが、ヒトのデング熱モデルとなっているかについては不明なことが多い。
- (6) デング熱はコロナ後急速に世界中で感染拡大が進んでおり、日本国内での蚊の媒介による自然感染例も 10 年ほど前に話題となり、媒介蚊であるネッタシマカやヒトスジシマカの生息域の北進が進んでいることが感染研の調査で明らかとなっていることから、ワクチン開発に対する期待が非常に高まっていた。(References 1, 2, 3)

## 2. 研究の目的

- (1) 急性期および回復期のデング熱患者の末梢血中の細胞障害性 T 細胞のデングウイルス抗原特異性を明らかにすること。
- (2) 上記のデング抗原特異的な T 細胞の免疫学的な特徴を明らかにすること。

## 3. 研究の方法

- (1) 種々の疾患の免疫学的な解析法として広く使用されるようになった 10X 社のシングルセル mRNA 発現解析システムを利用して患者の末梢血リンパ球に含まれるウイルス感染反応性の活性化 CD8 陽性 T 細胞の一個ずつの個別細胞での mRNA 発現ライブラリーを作製し、そこに含まれる T 細胞受容体 mRNA を用いたレパトワ解析、および T 細胞受容体配列を指標としたクローンレベルでの免疫関連遺伝子群の発現解析を行う。
- (2) 対象はフィリピン国マニラ地区の RITM 附属病院を受診した急性期のデング熱患者で、診断確定および同意書署名後、来院時、退院後 1 か月、および 3 か月後の 3 回にわたって同一人から約 20 ml のヘパリン採血を行い、採血後 12 時間以内に末梢血単核球を比重遠心分離法により精製し、セルバンカーにより 5 百万個毎で約 4-5 本のセラムチューブに分注し、液体窒素にて凍結保存する。なお RITM 臨床研究部の Effie Esperanza 部長、Arthur Dessi Roman 医師の協力の元採血を行った。また、本研究のプロトコールについては、長崎大学の TMGH 倫理審査委員会および RITM の Institutional Review Board の承認を受け施行された。
- (3) 凍結細胞および血漿、残余白血球は必要に応じて、ドライシッパーなどを用いてフィリピンから日本へ移送し、シングルセル解析、ウイルス配列解析、およびヒト宿主の HLA

- 解析に供する。
- (4) シングルセル解析は試薬が非常に高価（10万個の細胞の発現解析に2-3百万円（機器購入費は別）であるため、限られた予算内で最大のデータを得るための工夫を行った。上記はデータ収集までの費用であり、さらにビッグデータの解析に多大な人的および知的な専門性を必要としている。（References 4, 5, 6）
  - (5) 上記の工夫として、対象者を地域の主要な HLA 型保有者で、病型が比較的軽症な患者に絞り込むこと。デング特異的な T 細胞の動態を把握するために同一人の 3 つの異なる時期のサンプルを同一条件で比較検討すること、3 つの時期のサンプルを同じ反応試薬で行うために、反応前に各サンプルにそれぞれの時期が分かるようなタグを前処置したこと。さらに mRNA から一般的な発現解析に加えて細胞表面のタンパクレベルでの発現を押さえるために、バイオリジェンド社のユニバーサルモノクローナルキットを用いた主要な細胞表面マーカーの発現解析もプロトコールに加えた。上記の 3 つのタグで 1 チューブの反応に 3 つの異なるサンプルをあわせることができるようにデザインしたため、一回分の試薬で、4 名 x 3 ステージ = 12 サンプルを解析することができた。このデザインで最も重要だったのは解析対象の細胞数をあらかじめ、概算予測することで、概算では各サンプル 2-3 万個のシングルセルを解析可能であるとした。結果としてはほぼ予想通りのデータを得ることができた。
  - (6) 3 つの異なるライブラリーとして、それぞれ 3 つのタグを付けた 3 'mRNA、5' TCR mRNA、および抗体ラベルの遺伝子マーカーの cDNA ライブラリーを調整し、NGS によりゲノムシーケンスを大阪大学微生物病研究所ゲノム解析室、次世代シーケンス受託解析サービスに依頼し、すべての cDNA 種の DNA 配列の全リードを収納した Fastq ファイルを得ることができた。このファイルを常法の Loupe 解析にかけ、発現解析を行った。この解析には大阪大学免疫フロンティア研究センターの全面的な協力を得ることができた。

#### 4. 研究成果

- (1) 対象とした患者の HLA 型は表 1 に示した。

表 1. RITM の臨床部と協力し、18 名のデング患者の採血を 3 期に分けて行った。このうち、フィリピンの集団にコモンに観られる HLA-A\*2402, 07, 3401 に絞ってシングルセル解析に供した。

No.	ID	Age	NS1 Ag	IgM	IgG	Diagnosis	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1
5	DTCP_005	15	pos	pos	pos	Dengue w/ early warning signs (mild)	34:01	-	15:01 16:02	3:03 15:01
13	DTCP_013	13	pos	pos	pos	dengue severe	24:02 34:01	15:01 35:01	1:02 4:01	4:05 15:02
14	DTCP_014	18	pos	neg	pos	dengue fever with warning sign	24:02 24:07	15:35 51:02	7:02 14:02	12:02 15:02
16	DTCP_016	7	pos	pos	pos	dengue fever with warning signs	24:02 24:07	27:06 38:02	3:04 7:02	11:01 15:02

- (2) 4 名のドナーの末梢血 CD8 陽性 T 細胞分画のシングルセル解析結果

- ① まず各ドナー毎の 4 サンプル（各サンプルには 3 つのステージのタグおよび細胞表面マーカーの発現タグが前処置されている）の全体のデータセットの状況を表 2 にまとめて示した。この値は NGS の結果を LOUPE という専用のソフトで解析したものである。この際、すでに 3 つのタグについても実験手技により不可避に認められる複数のタグの混入についても Validation を行い、信頼できるデータとして厳選されたデータの取得数を最終的にその後の解析に供した。

表 2. ドナーごとのシングルセル解析の基本情報

ドナーID (HLA-A*)	計測値	mRNA発現	細胞表面タンパク	T細胞受容体VDJ
DTCP_005 (HLA A 34:01)	解析細胞数	13,163	13,163	7,827
	UMIの中央値 (細胞あたり)	2,948	2,022	TRA-2, TRB-6
	発現遺伝子数の中央値	1,254		
DTCP_013 (HLA A 24:02; 34:01)	解析細胞数	12,787	12,787	10,124
	UMIの中央値 (細胞あたり)	4,546	4,054	TRA-4, TRB-11
	発現遺伝子数の中央値	1,506		
DTCP_014 (HLA A 24:02; 24:07)	解析細胞数	18,338	18,338	11,922
	UMIの中央値 (細胞あたり)	3,952	3,732	TRA-3, TRB-11
	発現遺伝子数の中央値	1,592		
DTCP_016 (HLA A 24:02; 24:07)	解析細胞数	21,583	21,583	17,543
	UMIの中央値 (細胞あたり)	4,005	3,412	TRA-3, TRB-9
	発現遺伝子数の中央値	1,399		

- ② さらに本研究の目的である抗原特異的 T 細胞クローンの同定とその急性期から回復期における遺伝子発現動態の解析に研究を進めた。

表3. 各ドナーから得られたクロノタイプとクローンサイズ

Sample	frequency	proportion	TraCDR3aa	TRAV	TRAJ	TraCDR3aa	TBV	TRBD	TRBJ
D005	144	0.0184	CAVIGVADSVWGKQF	TRAV21	TRAJ24	CASSQEVGGMDTQIF	TRBV4-3		TRBJ2-3
	78	0.0100	CAISEAGDYGQNFVF	TRAV19	TRAJ26	CATAGGAVGQIQHF	TRBV10-3		TRBJ1-5
	58	0.0074	CAVYSGGGADGLTF	TRAV21	TRAJ45	CASRGQINEQFF	TRBV6-4		TRBJ2-1
	43	0.0055	CAVYAKDLIF	TRAV4	TRAJ34	CASVYAAIDTQYF	TRBV2		TRBJ2-3
	37	0.0047	CALSANNNDVRF	TRAV19	TRAJ43	CASSSEGFRAVNEQFF	TRBV5-6		TRBJ2-1
	34	0.0043				CATAGGAVGQIQHF	TRBV10-3		TRBJ1-5
	33	0.0042				CASVYAAIDTQYF	TRBV2		TRBJ2-3
	32	0.0041	CAVYSGGGADGLTF	TRAV21	TRAJ45	CASRGQINEQFF-CASSEDDGIFVGYTF	TRBV6-4;TRBV6-1		TRBJ2-1;TRBJ1-2
	26	0.0033	CAPYWGAGADGLTF	TRAV21	TRAJ45	CASSHEGSGANLVTF	TRBV6-6		TRBJ2-6
	28	0.0036				CASSQEVGGMDTQIF	TRBV4-3		TRBJ2-3
D013	386	0.0381	CLVCGLYESAKLIF	TRAV4	TRAJ3	CASSPSGAAAPQYF	TRBV12-4		TRBJ2-1
	29	0.0048	CALNIDKLI	TRAV36/DV7	TRAJ34	CASGSHPWVGYTF	TRBV6-2		TRBJ1-2
	254	0.0250	CAMRGRDAGGSYKLI	TRAV14/DV4	TRAJ52	CASSRTSOSVNEQFF	TRBV19		TRBJ2-1
	238	0.0235				CASSPSGAAAPQYF	TRBV12-4		TRBJ2-1
	137	0.0135	CAVRSYGSLTF	TRAV12-2	TRAJ11	CASSERGREIQYF	TRBV2		TRBJ2-5
	71	0.0070	CAVQAFGFGKLVF	TRAV20	TRAJ8	CSASREETIQYF	TRBV29-1		TRBJ2-3
	69	0.0068	CALNIDKLI	TRAV36/DV7	TRAJ34	CASGSHPWVGYTF	TRBV6-2		TRBJ1-2
	65	0.0064	CALRASYSLTF	TRAV19	TRAJ11	CSVSTRGQAF	TRBV29-1	TRBD1	TRBJ1-1
	65	0.0064	CALSECNARLVF	TRAV19	TRAJ31	CASSLVGGQNEQFF	TRBV11-1	TRBD1	TRBJ2-1
	63	0.0062	CALRSRGSSEKLVF	TRAV19	TRAJ57	CASSLGRKLVF	TRBV7-2		TRBJ1-4
D014	40	0.0059	CALRSRGSSEKLVF	TRAV19	TRAJ57	CASSLGRKLVF	TRBV7-2		TRBJ1-4
	1088	0.0913	CALSEYVGSQGNLIF	TRAV19	TRAJ42	CASSPAGGRFVQYF	TRBV4-1		TRBJ2-7
	306	0.0257	CAVRASSGSARQLTF	TRAV22	TRAJ22	CASSPAGGRFVQYF	TRBV4-1		TRBJ2-7
	92	0.0077				CSVSGNEQFF	TRBV29-1		TRBJ2-1
	91	0.0076				CSVSGNEQFF	TRBV29-1		TRBJ2-1
	74	0.0062	CAVLKDSNQLIV	TRAV41	TRAJ33	CASSYTGPEAFF	TRBV6-5		TRBJ1-1
	57	0.0048	CAMRDDQICANNLFF	TRAV14/DV4	TRAJ36	CASSQLAGLGEQYF	TRBV5-5	TRBD2	TRBJ2-7
	45	0.0038	CAVRSYGSLTF	TRAV20	TRAJ58	CASSQDAANNEQFF	TRBV4-3		TRBJ2-1
	34	0.0030	CAMRDDQICANNLFF	TRAV14/DV4	TRAJ36				
	31	0.0026	CAMRPLGCSNKLIF	TRAV14/DV4	TRAJ53	CSVGGQGGELF	TRBV29-1	TRBD1	TRBJ2-2
D016	31	0.0026	CVVSDPGRDOKLIF	TRAVB-2	TRAJ30	CASSFGGRSSVQYF	TRBV5-6		TRBJ2-7
	76	0.0054	CAMSDIGKLI	TRAV12-3	TRAJ23	CASSYSGEGAGELFF	TRBV6-5	TRBD1	TRBJ2-2
	74	0.0042	CAMRRTGASLIF	TRAV12-3	TRAJ44	CASSLNVGGPDTQYF	TRBV28		TRBJ2-3
	65	0.0037	CAASAPWGANLFF	TRAV29/DV5	TRAJ34	CASSSPGRVYQYF	TRBV5-5		TRBJ2-7
	31	0.0017	CAVNRGMRF	TRAV12-2	TRAJ43	CASSSRNPDTGELF	TRBV27		TRBJ2-2
	27	0.0015				CASSYSGEGAGELFF	TRBV6-5	TRBD1	TRBJ2-2
	24	0.0013				CASSSPGRVYQYF	TRBV5-5		TRBJ2-7
	20	0.0011	CAVSPDNDKLI	TRAV3	TRAJ34	CASSFGWVNEAFF	TRBV28		TRBJ1-1
	18	0.0010	CLVDFNKFYF	TRAV4	TRAJ21	CASSPQEGFNREQYF	TRBV18		TRBJ2-7
	18	0.0010	CAAQLSGRLIF	TRAV29/DV5	TRAJ58	CASSPOGLHNNQYF	TRBV7-9		TRBJ2-1
17	0.0009	CAANSGRKLI	TRAV13-2	TRAJ40	CASSGEGSEIAFF	TRBV5-4		TRBJ1-1	

表3. に示すように各ドナーから同定されたクロノタイプは  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖をコードする遺伝子配列 (CDR3、V 遺伝子、D、J 遺伝子) により決定され、表2 で示したように3つの時期の総計では、約1万から2万個のタイプが存在した。またそれぞれのクロノタイプのクローンサイズは、表3では、全体の数として表示されている。さらに表4では、得られたクロノタイプの数とそのサイズで19個以下のグループと20個以上のグループに分けた数値を示した。

③ 各クロノタイプごとのmRNA 発現動態解析

表4. 各ドナーの各ステージで決定されたクロノタイプの数、そのうちクローンサイズが2から19個、あるいは20個以上のタイプの数

Donor ID	D005			D013			D014			D016		
	Acute	Early recovery	Late recovery									
# of T cells recovered	1183	1526	1796	3455	2520	4041	2913	3289	3899	5391	4765	6584
# of TCR clonotypes	1027	1373	1620	2573	1976	3384	1975	2539	3075	5217	4631	6126
Non expanded (cells =1)	884	1246	1491	2453	1863	3267	1754	2327	2853	5092	4527	6061
Expanded (cells > 2 -19)	131	115	117	100	84	97	205	195	206	118	97	148
Highly expanded (cells > 20)	12	12	12	20	20	20	16	17	16	7	7	7

表4に示したように、解析可能なCD8T細胞のうち、約100-200クロノタイプが Dengue 熱感染後複数の細胞数として観察されたことが示された。末梢血中での抗原特異的なT細胞の動向については、これまでに参考となる報告がないため、ここで決定したクロノタイプ1個ずつについて、各ステージでの動向を Longitudinal にフォローし、それぞれのパターンを調べる作業を現在行っている。

(3) これまでの成果についての総括と今後の課題

上記(1)(2)の項目に示したように、当初計画した Dengue 患者の急性期から回復期にかけての末梢血でのCD8陽性細胞障害性T細胞のクロノタイプの決定およびその個別の細胞でのmRNA発現パターンの決定について、予定通りのデータ収集を行い、信頼できるものであることを確認できた。現在進行中のクロノタイプごとの末梢血での臨床経過に沿ったmRNA発現動向を確認することで、活性化T細胞の特性や免疫記憶細胞への分化、組織へのホーミング機構などに関する知見が得られることを期待している。今後の課題としては、得られたT細胞受容体の配列情報からいかにしてT細胞エピトープを予測するのかについて、分子モデルや各種データベース、AI、あるいは、in vitro 実験系を駆使して解析を進めていきたい。(References 7, 8, 9)

<引用文献>

1. Linh Tran, Nguyen Minh Tuan, Dao Ngoc Hien Tam, Abdulmueti Alshareef, Essam Emad, Ahmed Mohamed Khalifa, Truong Hong Hieu, Zeeshan Ali Khan, Lee Wei Jun, Kenji Hirayama. The timing setting in kinetic dengue studies: A systematic review. *Acta tropica* 234 106584-106584, 2022
2. Tran Quang Thach, et al. Predictive markers for the early prognosis of dengue severity: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 15(10) e0009808 2021
3. Manh DH, Weiss LN, et al. Kinetics of CD4+ T Helper and CD8+ Effector T Cell Responses in Acute Dengue Patients. *Front Immunol.* 2020 Sep 24;11:1980. doi: 10.3389/fimmu.2020.01980. eCollection 2020.
4. Mikhail V. et al. SARS-CoV-2 antigen exposure history shapes phenotypes and specificity of memory CD8 T cells. *Nat Immunol.* 2022 May ; 23(5): 781–790. doi:10.1038/s41590-022-01184-4.
5. Yanchun Peng et al. An immunodominant NP105-113-B\*07:02 cytotoxic T cell response controls viral replication and is associated with less severe COVID-19 disease. *Nat Immunol.* 2022 Jan;23(1):50-61. doi: 10.1038/s41590-021-01084-z. Epub 2021 Dec 1.
6. Arora JK, et al. Single-cell temporal analysis of natural dengue infection reveals skin-homing lymphocyte expansion one day before defervescence. *iScience.* 2022 Mar 5;25(4):104034. doi: 10.1016/j.isci.2022.104034. PMID: 35345453; PMCID: PMC8957021.
7. Sebastiaan Valkiers, et al. Recent advances in T-cell receptor repertoire analysis: Bridging the gap with multimodal single-cell RNA sequencing. *ImmunoInformatics.* Volume 5, 2022. 100009; ISSN 2667-1190.
8. Timothy A. Gondré-Lewis et al. Meeting report <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01377-x> NIAID workshop on T cell technologies. *nature immunology* Volume 24 | January 2023 | 14–18 |
9. Waickman AT, et al. Dissecting the heterogeneity of DENV vaccine-elicited cellular immunity using single-cell RNA sequencing and metabolic profiling. *Nat Commun.* 2019 Aug 14;10(1):3666. doi: 10.1038/s41467-019-11634-7. PMID: 31413301

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
研究分担者	水上 修作  (Mizukami Shusaku)  (00508971)	長崎大学・熱帯医学研究所・准教授   (17301)	
研究分担者	グエン フィティエン  (Nguyen Huy Tien)  (20457526)	長崎大学・熱帯医学・グローバルヘルス研究科・准教授   (17301)	
研究分担者	谷本 幸介  (Tanimoto Kosuke)  (60611613)	長崎大学・熱帯医学・グローバルヘルス研究科・客員研究員   (17301)	

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