

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11583

研究課題名（和文）毎日の食生活により徐々に蓄積される毒性終末糖化産物に対する除去機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of removal mechanisms for toxic advanced glycation products that gradually accumulate in the daily diet

研究代表者

坂井 亜紀子（SAKAI, Akiko）

金沢医科大学・総合医学研究所・准教授

研究者番号：60570059

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：毒性終末糖化産物（TAGE）は、糖の摂取により体内に蓄積される物質である。TAGEは様々な生活習慣病の発症や進展への強い関与が示唆されるのにも関わらず、その除去機構については未だ解析されていない。そこで本研究では、TAGEを分解する機構を明らかにすることを目的とした。TAGEは細胞内のタンパク質分解機構（オートファジー、ユビキチン-プロテアソーム系）により分解を受けていることが示唆された。また、細胞内におけるTAGE分解の挙動について、細胞内における蛍光標識を行った標準蛋白質の分解挙動を、蛍光強度を指標とする実験系の構築を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「人生100年時代」といわれる長寿社会の先にある介護、認知症、貧困のリスクは人生の先の不安として、さらには社会にとっては医療費の増大などにつながる大きな問題となっている。このような不安やリスクを軽減するためにも生活習慣病を予防し、健康寿命の延伸につなげる研究が喫緊の課題である。本研究では、生活習慣病に関連し、さらに糖の摂取が続く限り必ず蓄積され続けるTAGEの分解機構について解析を行った。これらの解明により、TAGEが引き起こしうる疾患の予防や改善にむけた活用が期待される。

研究成果の概要（英文）：Toxic Advanced glycation end-products (TAGE) are substances that accumulate in the body as a result of sugar intake. Although TAGE has been suggested to be strongly involved in the development and progression of various lifestyle-related diseases, its removal mechanism has not yet been elucidated. In this study, we aimed to clarify the mechanism of TAGE degradation, suggesting that TAGE was degraded by intracellular proteolytic mechanisms (autophagy and ubiquitin-proteasome system). In addition, we constructed an experimental system to study the degradation behavior of fluorescent labeled standard protein in cells, using fluorescence intensity as an indicator of the degradation behavior of TAGE in cells.

研究分野：分子生物学

キーワード：生活習慣病 終末糖化産物

1. 研究開始当初の背景

「食と疾患」の関係を繋ぐ重要なキーワードは「糖」である。糖は蛋白質などの化学修飾反応により AGEs を生成する。この反応は古くは食品の褐色反応として知られたが、生体内でも進行し、さらには AGEs の蓄積が様々な生活習慣病を引き起こすことが明らかとなってきた。そこで疾患の原因となる AGEs を特定し、除去することが重要であるが、AGEs は反応する糖の種類により多種多様に存在している。一般的によく知られるグルコース由来 AGEs は、生成までに数週間から数ヶ月といった長期間を要する。一方、糖代謝中間体グリセルアルデヒド由来 AGEs (TAGE) は細胞毒性が強いのみならず、反応速度が非常に早くわずか数時間で生成されることを明らかにしている。つまり、TAGE は慢性的に高い糖に暴露されなくとも、食事による一時的な糖の上昇により形成されて、徐々に生体を構成する細胞を損傷すると考えられる。実際に動物実験では、糖尿病モデルマウスにおいて食後の高血糖に伴い、体内での TAGE 上昇が証明されている。さらにヒト臨床検体において、TAGE が高い値で検出されるようになると、肝疾患や糖尿病、がんといった疾患発症との正相関がみられた。特に過剰な糖が摂取された場合に、糖代謝の中心となる肝臓での疾患との関連性が最も高い。本研究では、これまで解明されてこなかった、生活習慣病と関連の深い TAGE の分解機構に着目し、肝実質細胞を用いた詳細な解析を行った。

2. 研究の目的

これまでの研究から、TAGE の生成速度の速さと細胞毒性の高さから、TAGE は長期間にわたる糖ストレス負荷となる前に日常的に少しずつ生成され、最終的に肝疾患を含む生活習慣病や老化に進展していると考えられる。TAGE が疾患の発症や進展に及ぼす作用について解明が進む一方、TAGE による毒性を抑制する機構が不明のままでは人々の健康維持に役立てることは難しい。特に TAGE は、毎食後に短時間で一過性の生成が繰り返されると予想されるが、細胞障害を引き起こす程度にまで蓄積する前に排除される必要がある。しかし、これまでに TAGE に対する細胞内の防御機構は明らかになっておらず、生活習慣病などの予防や治療を目指すためにも解明は急務である。TAGE 生成の反応は不可逆で、元の正常な状態の蛋白質に戻ることはない。

そこで、生成された TAGE に対する防御機構が存在するのであれば、それは“分解機構”であると予想した。一般的に細胞内における不要な蛋白質の分解にはオートファジーやプロテアソームといった機構が知られているが、これらの TAGE に対する効果については全く解析されていない。本研究では TAGE を分解するための機構としてオートファジーやプロテアソームが関与するのか、という問いを立て、TAGE の分解機構の解明を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 細胞生存率の測定

肝実質株化細胞 HepG2 における細胞生存率の測定は、CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (promega)を用いた。薬剤処理を行った細胞に、CellTiter-Glo Reagent を添加し、96 ウェルプレートリーダー (GloMax; Promega)を用いて発光を測定した。

(2) ウェスタンブロッティング法

細胞を Laemmli sample buffer で溶解した。その後、サンプルを 95 °C で 5 分間加熱した。細胞抽出液から同濃度のタンパク質を SDS-ポリアクリルアミドゲルで分離した。これらのタンパク質を PVDF 膜に移し、抗 TAGE 抗体 (1:1000) と 4 °C で一晩、次いで二次抗体 (1:2000) と R. T. で 1 時間インキュベートした。免疫反応性タンパク質の検出には Chemi-Lumi One Super を使い、Fusion を用いてタンパク質バンドをスキャンした。1:30,000 希釈の抗 β -チューブリン抗体を内部コントロールとして用いた。検出にはケミルミイメーキングシステム (FUSION; Vilber-Lourmat) を用いて Chemi-Lumi One L (Nacalai Tesque) で TAGE 化タンパク質を検出した。

(3) 免疫沈降法

薬剤処理を行った HepG2 細胞を Lysis buffer for IP で溶解した。蛋白質量の測定後、タンパク質 lysate に見合った量の抗 TAGE 抗体を加えた。4°C で回転させながら 1 h 反応させた。50%スラリーの Protein G Sepharose 4 Fast Flow を加え、さらに 4°C で回転させながら 1 h 反応させた。その後、遠心し、TBS バッファーで洗浄後、2×Laemmli sample buffer を加える。加熱 (95°C 5 分) 後、ビーズから反応液を取り出し、サンプルとした。

(4) 蛋白質のトランスフェクション

Hep3B 細胞における蛋白質の transfection は、Xfect Protein Transfection Reagent (クロンテック)を用いた。蛍光ラベルされた標準蛋白質と 1×Xfect Protein Transfection Reagent

を混ぜた後、室温で30分間インキュベートした。細胞培養中のディッシュに、血清が含まれない培地を加えたのち、Transfection reagentを含めた調整液を加えて37°Cで2時間インキュベートした。培養後は希望する薬剤を含む培地を添加し、37°Cでインキュベーションを行った。

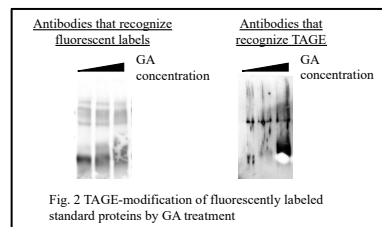
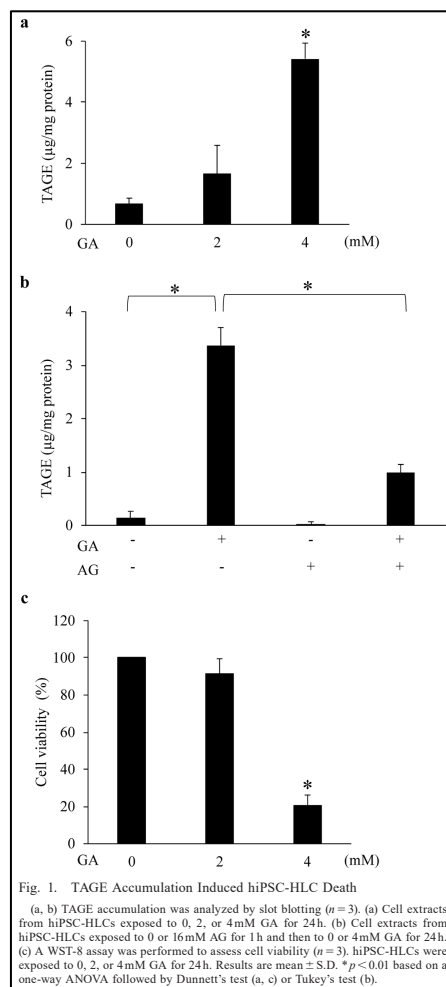
4. 研究成果

生体に取り込まれた過剰なグルコースやフルクトースの代謝は主に肝臓で行われている。代謝の際には中間体としてグリセルアルデヒド (GA) が産生され、タンパク質と反応して TAGE が形成される。TAGE 蓄積が細胞への障害と相関するののかについて明らかにする目的で、GA 処理を行った肝実質細胞における TAGE 量と細胞死について解析を行った。その結果、TAGE 蓄積と相関して、細胞死が引き起こされていることが明らかとなった。また、TAGE 蓄積の効果は AGEs 形成阻害剤 (アミノグアニジン (AG)) により抑制されていた (Fig. 1)。

GA による蛋白質の TAGE 化は、非酵素的に複雑な反応経路を経て、蛋白質間、蛋白質内で架橋構造を形成することにより非常に安定的な構造となる。そのため、細胞内における多種多様な蛋白質が TAGE 化修飾を受けることが予想される。我々は TAGE を認識可能である抗 TAGE 抗体を独自に有しており、免疫沈降法を用いた肝実質株化細胞 (HepG2) 中での TAGE 抽出を試みた。その結果、細胞内において 250kDa 以上に特徴的な TAGE 化修飾蛋白質を捉えた。免疫沈降法で得られた TAGE 化蛋白質は細胞内における主要な TAGE であり、細胞への毒性作用が最も強い可能性がある。一方、巨大分子が TAGE として検出される可能性として、様々なヘテロな蛋白質の複合体が架橋構造を形成されることも予想される。TAGE の同定は今後の解析が必要であるが、検出された巨大 TAGE 分子を分解の指標と用いることは、細胞内の分解メカニズムの解明のためのモデル分子としては適さないと考えた。そこで、細胞の生存に重要な働きを持つ蛋白質のうち、オートファジーの働きに重要なタンパク質を標的として、分解挙動を解析する研究を進めた。

オートファジー関連蛋白質 (X) は、細胞における GA 処理により異常高分子構造を形成する結果が得られ、TAGE 化していることが示唆された。X 蛋白質の TAGE 化による機能喪失はオートファジーの働きの低下が予想される。そこで TAGE 化蛋白質 X 分解機構が正常に行われることがその他の様々な TAGE 修飾タンパク質の除去に重要であると考えられた。HepG2 細胞における TAGE 化タンパク質 X の分解挙動を観察した結果、わずかではあるが時間経過に伴い分解されており、その分解はオートファジー阻害剤およびプロテアソーム阻害剤によって抑制されていた。この結果から、TAGE 化タンパク質は徐々にオートファジーとプロテアソーム、両方の働きにより分解されていることが示唆された。

一方、上記のタンパク質の分解挙動は特定のタンパク質に限られ、細胞全体での TAGE 修飾された蛋白質の分解挙動を解析するための実験系の作成は、簡便な TAGE 分解の評価に必要である。そこで、蛍光標識を行った標準蛋白質を Hep3B 細胞内に導入し、その後の分解挙動を、蛍光強度を指標とする実験系の考案を行った。蛍光標識された標準蛋白質は試験管内においては TAGE 前駆体処理により、AGEs 構造に特徴的な高分子架橋を形成した (Fig. 2)。さらに、細胞内に導入した蛍光標識を行った標準蛋白質は時間経過とともに分解されて蛍光強度が低下するが、TAGE 前駆体を処理した細胞ではその分解が抑制されることが示唆される結果を得た。分解抑制が観察される程度の GA 濃度では、プロテアソーム活性に影響が見られないことを示唆する結果も示されていることから、これらの実験による分解抑制は、TAGE 化による蛋白質の異常架橋と、それに伴う難分解性であることが示された。これらの蛍光強度を指標とした分解の解析から、細胞内における TAGE 形成とその分解挙動を解析するための新たな実験系となることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Sakai-Sakasai Akiko, Takeda Kenji, Suzuki Hirokazu, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Structures of Toxic Advanced Glycation End-Products Derived from Glyceraldehyde, A Sugar Metabolite	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 202 ~ 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom14020202	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 Takeuchi Masayoshi, Suzuki Hirokazu, Takeda Kenji, Sakai-Sakasai Akiko	4. 巻 183
2. 論文標題 Toxic advanced glycation end-products (TAGE) are major structures of cytotoxic AGEs derived from glyceraldehyde	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Medical Hypotheses	6. 最初と最後の頁 111248 ~ 111248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mehy.2023.111248	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 Takeda Kenji, Sakai-Sakasai Akiko, Kajinami Kouji, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 A Novel Approach: Investigating the Intracellular Clearance Mechanism of Glyceraldehyde-Derived Advanced Glycation End-Products Using the Artificial Checkpoint Kinase 1 d270KD Mutant as a Substrate Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2838 ~ 2838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells12242838	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 Sakasai-Sakai Akiko, Takeda Kenji, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Involvement of Intracellular TAGE and the TAGE?RAGE?ROS Axis in the Onset and Progression of NAFLD/NASH	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 748 ~ 748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox12030748	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 坂井(逆井)亜紀子、竹田健史、竹内正義	4. 巻 48
2. 論文標題 Toxic AGEs (TAGE)と健康:I. 細胞障害因子としてのTAGE	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 金沢医科大学雑誌	6. 最初と最後の頁 1-11
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 オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 竹内正義、竹田健史、坂井(逆井)亜紀子	4. 巻 48
2. 論文標題 Toxic AGEs (TAGE)と健康:II. 生活習慣病予測マーカーとしてのTAGE	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 金沢医科大学雑誌	6. 最初と最後の頁 12-21
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 オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakasai-Sakai Akiko, Takeda Kenji, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Involvement of Intracellular TAGE and the TAGE?RAGE?ROS Axis in the Onset and Progression of NAFLD/NASH	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 748 ~ 748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox12030748	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 Takeuchi Masayoshi, Sakasai-Sakai Akiko, Takata Takanobu, Takino Jun-ichi, Koriyama Yoshiki	4. 巻 11
2. 論文標題 Effects of Toxic AGEs (TAGE) on Human Health	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2178 ~ 2178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells11142178	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 Takata Takanobu, Sakasai-Sakai Akiko, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Intracellular Toxic Advanced Glycation End-Products May Induce Cell Death and Suppress Cardiac Fibroblasts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 615 ~ 615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo12070615	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 Takata Takanobu, Sakasai-Sakai Akiko, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Intracellular Toxic Advanced Glycation End-Products in 1.4E7 Cell Line Induce Death with Reduction of Microtubule-Associated Protein 1 Light Chain 3 and p62	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 332 ~ 332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14020332	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 Kikuchi Chigusa, Sakasai-Sakai Akiko, Okimura Risa, Tanaka Hinako, Takata Takanobu, Takeuchi Masayoshi, Matsunaga Tamihide	4. 巻 44
2. 論文標題 Accumulation of Toxic Advanced Glycation End-Products Induces Cytotoxicity and Inflammation in Hepatocyte-Like Cells Differentiated from Human Induced Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1399 ~ 1402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b21-00520	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 Tanaka Kenji, Sakasai-Sakai Akiko, Motomiya Yasuki, Yoneda Tatsuo, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Serum Levels of 1,5-anhydroglucitol and 1,5-anhydrofructose-derived Advanced Glycation End Products in Patients Undergoing Hemodialysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetology & Metabolic Syndrome	6. 最初と最後の頁 85 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13098-021-00685-w	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 Takeuchi Masayoshi, Sakasai-Sakai Akiko, Takata Takanobu, Takino Jun-ichi, Koriyama Yoshiki, Kikuchi Chigusa, Furukawa Ayako, Nagamine Kentaro, Hori Takamitsu, Matsunaga Tamihide	4. 巻 11
2. 論文標題 Intracellular Toxic AGEs (TAGE) Triggers Numerous Types of Cell Damage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 387 ~ 387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11030387	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 Takino Jun-ichi, Sato Takuma, Nagamine Kentaro, Sakasai-Sakai Akiko, Takeuchi Masayoshi, Hori Takamitsu	4. 巻 44
2. 論文標題 Suppression of Hepatic Stellate Cell Death by Toxic Advanced Glycation End-Products	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 112 ~ 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00708	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 逆井 (坂井) 亜紀子、竹内正義	4. 巻 52
2. 論文標題 NAFLD/ALD と Toxic AGEs (TAGE)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 糖尿病・内分泌代謝科	6. 最初と最後の頁 50 ~ 57
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13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 坂井亜紀子、竹田健史、竹内正義
2. 発表標題 TAGEと肝障害
3. 学会等名 日本薬学会第144年会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Takeda Kenji、Sakai-Sakasai Akiko、Kajinami Kouji、Takeuchi Masayoshi
2. 発表標題 Novel approach: Elucidating the intracellular clearance mechanism of toxic AGEs (TAGE) utilizing the artificial CHK1 mutant d270KD as a substrate model
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂井亜紀子、竹田健史、竹内正義
2. 発表標題 Toxic AGEs (TAGE) と健康
3. 学会等名 第27回糖化ストレス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂井(逆井)亜紀子、竹田健史、竹内正義
2. 発表標題 糖代謝中間体グリセルアルデヒドが引き起こす骨芽細胞障害
3. 学会等名 第23回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹内正義、逆井(坂井)亜紀子、高田尊信、郡山恵樹、古川絢子、瀧野純一、長嶺憲太郎、堀隆光、菊池千草、堀英生、岩尾岳洋、松永民秀
2. 発表標題 ヒトの健康に対するToxic AGEs (TAGE)の影響
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高田尊信、逆井(坂井)亜紀子、竹内正義
2. 発表標題 毒性終末糖化産物(TAGE)の生成・蓄積が引き起こす心筋細胞および心臓線維芽細胞障害
3. 学会等名 第70回日本心臓病学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹内正義、高田尊信、逆井(坂井)亜紀子、瀧野純一、郡山恵樹、松永民秀
2. 発表標題 生活習慣病予防および健康寿命延伸における新規ターゲットToxic AGEs (TAGE)
3. 学会等名 第22回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹内正義、逆井(坂井)亜紀子、高田尊信
2. 発表標題 生活習慣病予防における新規ターゲットToxic AGEs (TAGE)
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 逆井(坂井)亜紀子、高田尊信、竹内正義
2. 発表標題 グリセルアルデヒド(GA)およびGA由来AGEs(TAGE)による骨芽細胞障害
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高田尊信、逆井(坂井)亜紀子、瀧野純一、竹内正義
2. 発表標題 生活習慣病の発症・進展予防における新規概念Toxic AGEs (TAGE)と食事療法
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 逆井(坂井)亜紀子、高田尊信、瀧野純一、竹内正義
2. 発表標題 肝実質細胞内における毒性AGEs(TAGE)蓄積が酸化ストレスに及ぼす影響
3. 学会等名 第7回肝臓と糖尿病・代謝研究会学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 逆井(坂井)亜紀子、高田尊信、竹内正義
2. 発表標題 Accumulation of toxic advanced glycation end-products induces cell death and inhibits osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内正義、逆井(坂井)亜紀子、高田尊信、瀧野純一、郡山恵樹、古川絢子、那須隆斗、菊池千草、長嶺憲太郎、堀隆光、松永民秀
2. 発表標題 生活習慣病における新たな概念Toxic AGEs (TAGE)
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

金沢医科大学 総合医学研究所 糖化制御研究分野
<https://www.kanazawa-med.ac.jp/laboratories/mri-ages.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
---------	---------