

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19325

研究課題名（和文）新規内因性フェロトーシス制御機構の生物学的意義および病態生理学的役割の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the biological significance and pathophysiological role of the novel mechanisms by which ferroptosis is regulated endogenously

研究代表者

松沢 厚（Matsuzawa, Atsushi）

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：80345256

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、独自に同定した内因性因子やキナーゼ分子によるGPX4の新たな発現・活性制御機構について、そのフェロトーシス制御での役割の解明を目指した。ストレス応答キナーゼ分子XによるGPX4のリン酸化部位の同定に成功した。GPX4リン酸化部位のリン酸化ミミック変異体では、酵素活性が著しく減少しており、Xがストレス刺激依存的にGPX4をリン酸化することで、その酵素活性を抑制し、フェロトーシスを促進することが示唆された。

また、GPX4のタンパク発現維持に重要な血清中成分Yの同定に至った。実際に、Yの除去によりGPX4のタンパク発現が減少し、Yの添加によりその発現が上昇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

フェロトーシスは、生体膜脂質の鉄依存的酸化で誘導される新たな制御性の細胞死で、神経変性疾患や虚血性疾患などの様々な病態増悪との関連から、新規創薬ターゲットとして、近年世界的に注目されている。脂質酸化除去酵素GPX4は、酸化脂質の除去によってフェロトーシス抑制に働く最も重要な制御分子であるが、GPX4の発現・活性制御機構については不明な点が多く残されている。本研究により、GPX4のリン酸化修飾とその責任キナーゼ分子X、発現・活性の制御において重要な役割を担う内因性因子Y同定することができ、関連疾患の発症機序の解明に繋がる、重要な基礎的知見が得られた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we sought to elucidate novel regulatory mechanisms of GPX4 expression and activity by a protein kinase and an endogenous factor, respectively, and their roles in ferroptosis.

We identified the phosphorylation site of GPX4 by a stress-responsive protein kinase X. Phosphorylation mimic mutants of the GPX4 showed a marked decrease in its enzyme activity, suggesting that kinase X phosphorylates GPX4 in a stress stimulus-dependent manner to suppress its enzymatic activity, thereby promoting ferroptosis.

In addition, we identified a serum-derived molecule Y that is important for the maintenance of GPX4 protein expression. We found that removing molecule Y from the serum in the medium decreased GPX4 expression, while adding Y increased it.

研究分野：分子生物学

キーワード：フェロトーシス GPX4 翻訳後修飾 脂質酸化 プログラム細胞死

## 1. 研究開始当初の背景

「フェロトーシス」とは、生体膜リン脂質が鉄依存的に発生する活性酸素による酸化を受けることで誘導される、最近発見された新たなプログラム細胞死で、強力ながん抑制機構としての重要性や、循環器系疾患・神経変性疾患・急性臓器障害などの諸疾患発症・増悪への寄与などの病理学的意義の解明が急速に進み、注目されている。このフェロトーシスの制御に必須かつ最重要な分子である脂質酸化消去酵素 GPX4 (グルタチオンペルオキシダーゼ4) は、グルタチオンを利用して酸化脂質を還元する活性を保持する酵素で、恒常的に酸化脂質を消去することで、細胞死を抑制している。実際に Erastin や RSL3 等の低分子化合物の単独処置だけで、様々な細胞株で顕著なフェロトーシスが惹起されることから、GPX4 による恒常的な脂質酸化抑制作用の細胞生存における重要性が理解できる。

フェロトーシス誘導刺激として、実験的には上述のような薬剤あるいは遺伝子改変による GPX4 阻害が利用されてきたが、他のプログラム細胞死のような、生体内に存在する内因性因子による誘導の報告例がほぼ存在しないため、フェロトーシスの生体機能調節等における本質的な機能的役割は全く不明で、病態発症に繋がる環境・遺伝的要因についての理解も進んでいない。その大きな要因として、GPX4 の発現・活性制御機構に関する解明がほとんど進んでおらず、特に GPX4 の翻訳後修飾を介した機能制御に関する知見は皆無である点が挙げられる。上記のような背景から申請者らは、GPX4 の発現・活性制御に寄与する内因性の(生体内に存在する)刺激因子ならびに翻訳後修飾関連因子の同定を目的とした独自のスクリーニングを実施した結果、(1)細胞培養液中の血清除去により GPX4 が著しく発現減少すること、(2)GPX4 の直接的な活性阻害にセリン・スレオニンキナーゼ分子 X が寄与することを新たに見出した。

## 2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、本研究では、申請者らが独自のスクリーニングで同定した内因性フェロトーシス誘導因子(ストレス応答キナーゼ分子 X と血清中成分 Y)による GPX4 の新規発現・活性制御機構を解析することで、フェロトーシスの本質的な生物学的意義に迫ると共に、関連疾患の新規予防・治療戦略や未確立の疾患バイオマーカー開発を見据えた病態生理学的役割の解明を目指した。

## 3. 研究の方法

### (1) キナーゼ分子 X によるリン酸化修飾を介した GPX4 活性制御機構の解析

ストレス応答キナーゼ分子 X は、活性酸素刺激といった酸化ストレスなどに応答することから、フェロトーシスの誘導に深く関与する酸化脂質との関連性や、キナーゼ分子 X が酸化ストレスを感知して、その情報を GPX4 へ伝える生理的意義・合目的性に合致すると想定された。そこで、キナーゼ分子 X による GPX4 のリン酸化サイトを同定するために、質量分析を利用した解析を行った。また、GPX4 に存在する全てのセリン・スレオニンを 1 箇所ずつアラニン置換した点変異体を作製し、リン酸化修飾の有無を phos-tag ウェスタンブロットによって解析し、リン酸化部位の同定を目指した。リン酸化部位同定後、当該アミノ酸の Asp、Glu 置換体(リン酸化ミミック変異体)を作

成し、GPX4の活性や発現に与える影響を解析した。

#### (2) 血清中成分 Y による GPX4 発現制御機構の解析

GPX4の発現・活性制御の起点となる内因性の刺激因子や翻訳後修飾関連因子の同定を目的とした独自のスクリーニングの成果として、細胞培養液中の血清除去でGPX4が著しく発現減少することを見出したことから、未知の血清中成分が内在性因子としてGPX4の発現を維持し、フェロトシス抑制的に働いていることが示唆されていた。そこで本研究では、血清中成分の同定のための血清処理や分画の条件を検討し、それらの検討結果から、質量分析等を利用し、目的とする血清中成分の探索・同定を進めた。血清中成分 Y を同定後、本成分を除去した際のGPX4発現の変動の有無や、GPX4の発現制御機構について詳細な解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) キナーゼ分子 X によるリン酸化修飾を介した GPX4 活性制御機構の解析

質量分析や、セリン・スレオニンの点変異体を利用した phos-tag ウェスタンの解析などから、GPX4の新規リン酸化部位の同定に至った。本リン酸化部位のリン酸化ミミック変異体を作製し、GPX4の*in vitro*の酵素活性を測定した結果、野生型GPX4において認められた過酸化脂質の消去能が、本変異体では著しく減弱していたことから、同定したGPX4のリン酸化は、GPX4の活性維持において重要な役割を果たすことが示唆された。

#### (2) 血清中成分 Y による GPX4 発現制御機構の解析

血清処理や分画の条件検討の結果、GPX4の発現制御に主要な役割を担う血清中成分 Y を同定した。本成分を、細胞培養液中の血清中から除去したところ、GPX4の発現が著しく減少した。また、本成分を細胞培養液中に添加することで、GPX4の発現が大きく回復・増加した。

さらに、本研究から派生して、約10年前のフェロトシスの発見以来、未だに謎に包まれている本細胞死の実行機構に関する重要な知見も得ることができた。我々は、脂質過酸化によって生体膜の物理化学的性質が影響を受け、フェロトシスの誘導に寄与している可能性を想定し、生体膜脂質およびイオンチャネルなどの生体膜関連分子に関する最先端の解析技術を有し、数々の優れた研究業績を挙げているカナダ・トロント大学生化学部門(トロント小児病院)の Sergio Grinstein 教授および Spencer A. Freeman 助教との共同研究を実施し、フェロトシスの新規実行分子として、機械刺激受容体 Piezo1 および TRP チャネル分子を同定し、米国科学雑誌 *Current Biology* にて発表した (*Current Biology*, 33(7), 1282-1294, 2023)。脂質過酸化時には、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ の細胞内外の濃度勾配の維持を担う  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase の活性低下、および Piezo1・TRP チャネルの活性化が同時並行で起きることで、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ などの一価カチオン流出入が協調的に引き起こされ、フェロトシスが誘導されることが明らかになった。

以上より、本研究によって、当初から目的としていた、生体内の内因性因子および翻訳後修飾によるGPX4の発現・活性制御機構の実体、およびフェロトシスの実行機構の一端を解明することができた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hirata Y, Cai R, Volchuk A, Steinberg BE, Saito Y, Matsuzawa A, Grinstein S, Freeman SA	4. 巻 33
2. 論文標題 Grinstein, S., Freeman, S. A. Lipid peroxidation increases membrane tension, Piezo1 gating, and cation permeability to execute ferroptosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Curr Biol	6. 最初と最後の頁 1282-1294.e5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2023.02.060	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 該当する
1. 著者名 Sekiguchi Y, Takano S, Noguchi T, Kagi T, Komatsu R, Tan M, Hirata Y, Matsuzawa A	4. 巻 210
2. 論文標題 The NLRP3 Inflammasome Works as a Sensor for Detecting Hypoactivity of the Mitochondrial Src Family Kinases	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Immunol	6. 最初と最後の頁 795-806
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.2200611	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 Luo YR, Kudo TA, Tominami K, Izumi S, Tanaka T, Hayashi Y, Noguchi T, Matsuzawa A, Nakai J, Hong G, Wang H	4. 巻 23
2. 論文標題 SP600125 Enhances Temperature-Controlled Repeated Thermal Stimulation-Induced Neurite Outgrowth in PC12-P1F1 Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 15602
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms232415602	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 該当する
1. 著者名 Lee JY, Kim JM, Noguchi, T, Matsuzawa A, Naganuma A, Hwang GW	4. 巻 9
2. 論文標題 Deubiquitinase USP54 attenuates methylmercury toxicity in human embryonic kidney 293 cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fudam Toxicol Sci	6. 最初と最後の頁 159-162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2131/fts.9.159	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 該当する

1. 著者名 Kagi T, Naganuma R, Inoue A, Noguchi T, Hamano S, Sekiguchi Y, Hwang GW, Hirata Y, Matsuzawa A	4. 巻 75
2. 論文標題 The polypeptide antibiotic polymyxin B acts as a pro-inflammatory irritant by preferentially targeting macrophages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Antibiot	6. 最初と最後の頁 29-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-021-00490-7	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 Kagi T, Noguchi T, Matsuzawa A	4. 巻 12
2. 論文標題 Mechanisms of gefitinib-induced interstitial pneumonitis: why and how the TKI perturbs innate immune systems?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 1321-1322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.27958	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 Shimada T, Kudoh Y, Noguchi T, Kagi T, Suzuki M, Tsuchida M, Komatsu H, Takahashi M, Hirata Y, Matsuzawa A	4. 巻 22
2. 論文標題 The E3 Ubiquitin-Protein Ligase RNF4 Promotes TNF- $\alpha$ -Induced Cell Death Triggered by RIPK1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 5796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22115796	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 Hirata Y, Takahashi M, Yamada Y, Matsui R, Inoue A, Ashida R, Noguchi T, Matsuzawa A	4. 巻 11
2. 論文標題 trans-Fatty acids promote p53-dependent apoptosis triggered by cisplatin-induced DNA interstrand crosslinks via the Nox-RIP1-ASK1-MAPK pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 10350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89506-8	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 Toyama T, Hoshi T, Noguchi T, Saito Y, Matsuzawa A, Naganuma A, Hwang GW	4. 巻 11
2. 論文標題 Methylmercury induces neuronal cell death by inducing TNF- expression through the ASK1/p38 signaling pathway in microglia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 9832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89210-7	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26件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Regulatory mechanisms of the novel cell death parthanatos induced by ROS signaling
3. 学会等名 The 12th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide (Symposium) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松沢厚
2. 発表標題 抗がん剤ゲフィチニブによる間質性肺炎の発症機序の解明および細胞死との関係
3. 学会等名 第55回医薬品毒性機序研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Development of therapeutic strategies for various diseases by regulation of the cell death/survival balance using ubiquitin chemo-technologies
3. 学会等名 The International Symposium in Tokyo 2022, Ubiquitin New Frontier from Neo-Biology to Targeted Protein Degradation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 You-Ran Luo, Tada-aki Kudo, Kanako Tominami, Satoshi Izumi, Yohei Hayashi, Takakuni Tanaka, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa, Hang Wang, Junichi Nakai, Guang Hong
2. 発表標題 A JNK inhibitor enhances thermal stimulation mediated neurite outgrowth in PC12-P1F1 cell
3. 学会等名 2023 Scientific Annual Meeting of ADEAP, CA+inD International Symposium 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Wakana Suzuki, Midori Suzuki, Yusuke Hirata, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Elucidation of novel roles of NBR1 in oxidative stress-induced cell death parthanatos
3. 学会等名 Forum 2022 Pharmaceutical Health Science, Environmental Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Maoko Tan, Tomohiro Kagi, Yusuke Hirata, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Elucidation of the novel mechanisms by which surfactants initiate pro-inflammatory responses
3. 学会等名 Forum 2022 Pharmaceutical Health Science, Environmental Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏原直樹, 平田祐介, 蘆田諒, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸の新規毒性分子基盤に基づく包括的リスク評価
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 平田祐介, 山田侑杜, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 共役トランス脂肪酸によるフェロトーシス誘導機構の解明
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 山田侑杜, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 共役脂肪酸による新規プログラム細胞死フェロトーシス誘導機構の解析
3. 学会等名 第61回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田真佑花, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 新規フェロトーシス誘導剤の同定とその分子機構の解明
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平田祐介, 松沢厚
2. 発表標題 フェロトーシス実行における機械刺激受容体Piezo1/TRP チャンネルの機能的役割の解析
3. 学会等名 レドックスR&D戦略委員会 第2回若手シンポジウム
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 平田祐介, 蘆田諒, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸の新規毒性メカニズムに基づく包括的リスク評価
3. 学会等名 フォーラム2022衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松沢厚
2. 発表標題 抗がん剤ゲフィチニブによる間質性肺炎の発症機序の解明
3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takumi Yokosawa, Yusuke Hirata, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Identification of the novel RING finger E3 ubiquitin ligase LINCR as a critical regulator of innate immune responses
3. 学会等名 International Graduate Student Conference in Pharmaceutical Sciences (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Kagi, Yuto Sekiguchi, Saya Takano, Yusuke Hirata, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Elucidation of the novel mechanisms by which gefitinib initiates inflammatory side effects
3. 学会等名 International Graduate Student Conference in Pharmaceutical Sciences (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryo Ashida, Yusuke Hirata, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 A comprehensive toxicological evaluation of trans-fatty acids based on the novel molecular mechanisms of their pro-apoptotic functions
3. 学会等名 Forum 2021 Pharmaceutical Health Science, Environmental Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuya Shimada, Tomohiro Kagi, Midori Suzuki, Hiromu Komatsu, Yusuke Hirata, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 The E3 ubiquitin-protein ligase RNF4 promotes TNF- $\alpha$ -induced cell death triggered by RIPK1
3. 学会等名 Forum 2021 Pharmaceutical Health Science, Environmental Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuya Noguchi, Yuto Sekiguchi, Aya Inoue, Tomohiro Kagi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Involvement of the NLRP3 inflammasome in adverse drug reactions (ADRs)
3. 学会等名 The 6th Japan-Taiwan Joint Symposium for Pharmaceutical Sciences (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田真佑花, 江崎雄亮, 山田裕太郎, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 新規フェロトーン抑制因子Makorin ring finger protein 1 (MKRN1)の同定
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 蘆田諒, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による細胞老化を介した炎症応答促進作用とその分子機構の解明
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田真佑花, 江崎雄亮, 山田裕太郎, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 新規フェロトーン抑制因子MKRN1の同定
3. 学会等名 第60回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 蘆田諒, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による細胞老化を介した炎症応答促進機構
3. 学会等名 フォーラム2021衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平田祐介, 山田侑杜, 井上綾, 蘆田諒, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるDNA損傷時の細胞死シグナル増強機構
3. 学会等名 フォーラム2021衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田真佑花, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 ポリペプチド抗菌薬ポリミキシンBの毒性発現機構の解明
3. 学会等名 第48回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田侑杜, 井上綾, 蘆田諒, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 DNA損傷様式によって異なるトランス脂肪酸の細胞死シグナル促進機構
3. 学会等名 第48回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田侑杜, 平田祐介, 井上綾, 蘆田諒, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるDNA損傷誘導性細胞死のシグナル増強機構
3. 学会等名 日本生化学会東北支部 第87回例会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 松沢厚	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本薬学会	5. 総ページ数 5
3. 書名 YAKUGAKU ZASSHI (トランス脂肪酸による毒性発現の分子メカニズムと関連疾患の発症予防)	

1. 著者名 今井浩孝, 松沢厚	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本薬学会	5. 総ページ数 2
3. 書名 YAKUGAKU ZASSHI (環境・衛生部会シンポジウム - 食品栄養素ストレスによる疾患とその予防戦略 - )	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北大学薬学部衛生化学分野 <a href="http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~eisei/eisei.HP/">http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~eisei/eisei.HP/</a>
--

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
研究協力者	平田 祐介  (Hirata Yusuke)		

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		
イタリア	ISOF - CNR		
カナダ	University of Toronto		