

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06305

研究課題名（和文）次世代エピゲノム解析技術の開発とその応用

研究課題名（英文）Development and applications of next-generation epigenomics technologies

研究代表者

伊藤 隆司（Ito, Takashi）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：90201326

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 97,900,000円

研究成果の概要（和文）：トランスオミクスにおいて重要なエピゲノム解析技術の高感度化および多重化に取り組み、独自のTACSライゲーションを開発してメチローム解析技術PBATを高度化するとともに、新規in vivoゲノムフットプリント法DMS-seqを開発した。更に、TACSライゲーションを利用して非定型的DNA構造に富む新規セルフリーDNAを発見した。また多重エピゲノム解析技術開発の基盤となる新規DNAメチル化酵素を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全ゲノムパイサルファイトシーケンシングにおいて有数の実績を残してきたPBAT法が新技術TACSライゲーションの開発によって更に高度化されて支援に活用されたことによって、メチローム解析を含む多彩な研究が数多く促進された。更に新規ゲノムフットプリント法の開発により、エピゲノム解析手法のレパートリーが広がった。また長らく見落とされてきた新規クラスの発見によって、血中セルフリーDNAの全貌を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In this project, we aimed to develop highly-sensitive and/or multiplexed epigenome sequencing methods, which should be critical to accelerate trans-omic analyses. First, we developed a highly efficient method for single-stranded DNA ligation termed TACS ligation and introduced it to further improve the performance of PBAT, the most sensitive and reliable methylome sequencing method of our own. Second, we developed DMS-seq for in vivo genome-wide mapping of protein-DNA interactions and nucleosome centers, thus adding a unique method to the toolbox for epigenomics. Third, we applied TACS ligation to cell-free DNA analysis and revealed a novel class of short single-stranded DNA enriched with noncanonical DNA structure, or antisense of G-quadruplex structure. Fourth, we identified a novel DNA methyltransferase, which should lay a basis for a multiplexed epigenomics method to encode histone modification information to methylation of neighborhood DNA.

研究分野：ゲノム科学

キーワード：DNAメチル化 ゲノムフットプリンティング セルフリーDNA DNAメチル化酵素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

トランスオミクスでは、同一試料から様々な階層の計測を行ない、その結果を統合的に解析する必要がある。特にエピゲノムは、DNAメチル化・各種ヒストン修飾・ヒストンバリエーション・ヌクレオソーム配置・クロマチンアクセシビリティ・核内高次構造等の実に多種多様なサブ階層から構成されていることから、エピゲノム解析自体がトランスオミクスとならざるを得ないという特性を備えている。したがって、次世代エピゲノム解析技術に求められるものは、必要な試料の量を最小化する計測の高感度化か、複数階層を同時に計測する計測の多重化になる。研究開発当初は、トランスクリプトーム解析で始まった一細胞解析に刺激されたエピゲノム解析の超高感度化への取り組みが始まる一方で、多重計測に向けた模索も始まりつつあるという状況であった。

2. 研究の目的

上記の認識の下、本研究においては、エピゲノム解析技術の高感度化および多重化を意識した計測手法の開発研究に取り組む。特に、研究代表者が開発実績を持つ高感度・高精度メチローム解析技術 PBAT について、更なる高度化を要素技術の開発を通して実現することを目指す。そうして高度化された PBAT を用いて領域内の各課題におけるメチローム解析を支援し、代謝アダプテーション研究の推進に貢献する。また、新規エピゲノム計測技術および多重エピゲノム解析技術の開発に取り組むとともに、その過程で開発された各種技術の応用展開を図る。

3. 研究の方法

(1) 次世代メチローム解析技術の開発

PBAT は、バイサルファイト変換されたゲノム DNA (BS-DNA) の相補性 DNA を 2 回のランダムプライミングによって合成することによって、全ゲノムバイサルファイトシーケンス (WGBS) を行う技術である。PBAT は、一細胞解析も可能な高感度のみならず、最も高い正確性を有することが示されている。しかしながら、PBAT には、ライブラリ断片長が短い、極微量解析時のマッピング率が低い (人工副産物が多い)、低 GC 含量領域のカバレッジが低下する、という欠点があった。これらはいずれもランダムプライミングに起因するものと考えられる。そこでランダムプライミングに代わる効率的なアダプタ付加法を開発することで、これらの欠点を克服した次世代 PBAT の開発を目指す。

(2) 次世代ゲノムフットプリント法の開発

ゲノム DNA とタンパク質の相互作用をゲノムワイドに解析するフットプリント法は、DNaseI を利用するために核の単離を前提とし、技術的難易度も高くならざるを得なかった。この点を克服するために、細胞膜透過性の DNA メチル化試薬であるジメチル硫酸 (DMS) による *in vivo* フットプリンティングに着目し、これを次世代シーケンシングと組み合わせてゲノムワイドに展開する DMS-seq の開発を試みることにした。

(3) 新規要素技術を用いたセルフリーDNA (cfDNA) 解析

PBAT の高度化のために開発された効率的な一本鎖 DNA (ssDNA) 連結技術である TACS ライゲーション法 (以下 TACS) を ssDNA 解析法の導入が転写因子フットプリントの検出に有効とされる血中 cfDNA 解析に応用する。

(4) 多重エピゲノム解析の要素技術開発

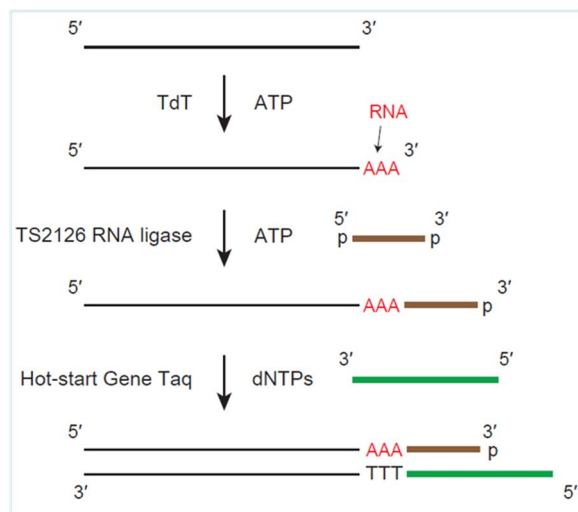
ヒストン修飾の情報を近接 DNA にメチル化としてエンコードした上でメチローム解析を行うことによって、内在性メチル化情報を一緒にデコードする方法に必要な技術の開発を行う。

4. 研究成果

(1) 次世代メチローム解析技術の開発

BS-DNA は変性した ssDNA であることから、ランダムプライミングに代わるアダプタ付加法として、我々は効率的な ssDNA 連結法の開発に取り組んだ。ssDNA 同士を連結する活性を有するのは DNA リガーゼではなく RNA リガーゼである。しかしながら、RNA リガーゼの ssDNA 連結活性は RNA 連結活性に比較すると各段に低い。RNA リガーゼは、形成するホスホジエステル結合の 3' 末端側がリボヌクレオチド (rNMP) であることに敏感であるが、5' 末端側はデオキシリボヌクレオチド (dNMP) であっても問題がない。したがって、標的 ssDNA の 3' 末端に rNMP を付加すれば、RNA リガーゼによって ssDNA アダプタと効率的に連結することが可能な筈である。ssDNA の 3' 末端に dNMP を付加する Terminal deoxyribonucleotidyl transferase (TdT) は、rNTP を基質として与えると 2 ないし 3 残基を付加したところで反応が停止することが知られていた。そこで我々は、ATP 存在下で TdT 処理することによって ssDNA の 3' 末端に rAMP を付加した後、RNA リガーゼを加えることで ssDNA アダプタと連結する方法を開発し、TdT-assisted Adenylate

Connector-mediated ssDNA ligation (TACS) と命名した (右図)。TACS は通常の RNA リガーゼによる ssDNA 連結よりも格段に効率がよいことが判明した。また 2-3 残基の rAMP が連続して存在する ssDNA であっても Taq DNA ポリメラーゼが相補鎖を合成できることも判明した。



そこで我々は、まず BS-DNA 上でランダムプライミングによって得られた相補性 DNA に TACS で ssDNA アダプタを付加する tPBAT を試みた。その結果、インサート長の改善が見られた。また、投入 DNA 量を極微量まで減らしてもライブラリ収量がそれに依りて減少してゆくことが判明し、実際にシーケンスを行ってもマッピング率が低下しなかった。以上より、PBAT 原法の問題点 と が解決されたことが分かった。そこで tPBAT を用いて領域内のメチローム解析の支援を行い、いずれにおいても所期の WGBS データの提供に成功した。

tPBAT は、PBAT 原法の欠点 と を克服できたが、 については大きな改善を達成できなかった。その原因は、BS-DNA 上でのランダムプライミングを排除できていないことにある。そうせざるを得なかったのは、BS-DNA の 3' 末端に対しては TACS による ssDNA 連結がホスファターゼ処理を施しても効率的に働かなかったからである。この結果は、BS-DNA の 3' 末端が OH 基でもリン酸基でもないことを示唆しており、デオキシリボースが開裂したような構造を取っていることが予想された。そこで想定される構造を除去できる可能性のある酵素を検討し、その酵素を発現精製した上でアルカリホスファターゼとともに BS-DNA に作用させたところ、TdT による 3' 末端標識効率が各段に向上したことから、3' 末端を OH 基に変換できたことが分かった。3' 末端構造が確定した訳ではないが、末端修復処理によって BS-DNA を TACS の基質とすることが可能となった。

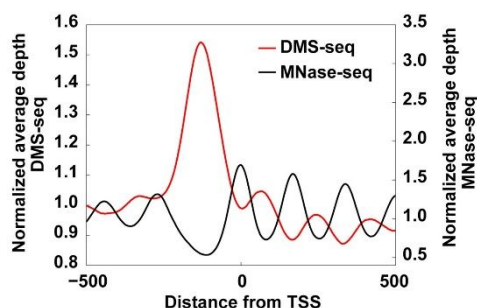
そこで末端修復を施した BS-DNA に TACS でアダプタを付加した上で、アダプタに相補的なプライマーから相補鎖を伸長させた上で第 2 のアダプタを付加することを試みた。第 2 のアダプタを TACS で連結する方法 (TACS-TACS 法) を試みたところ、低 GC 含量領域のカバレッジが劇的に改善した。Neurospora ゲノムには局所的に極端に AT に富む領域 (RIP 領域) が存在し、PBAT や tPBAT ではその領域のカバレッジが極端に低下していたが、TACS-TACS では全く問題なくカバーされた。ゲノム全体のカバレッジも極めて理想的な状態となった。一方でライブラリ収率自体は tPBAT よりも低下し、期待されたライブラリ断片長の更なる伸長も見られなかった。前者の改善を目指して、第 2 のアダプタを T4 DNA リガーゼで付加する方法 (TACS-T4) も試みたが、大きな改善は得られなかった。以上の結果は、BS-DNA 上での相補鎖合成が末端まで達していない分子が多いことを示している。そこで様々な DNA ポリメラーゼおよびその変異体をテストして最適化を進めた結果、損傷乗越え型酵素との併用が有効であることが判明した。

以上、tPBAT の開発によって実用レベルでの PBAT の高度化に成功するとともに、TACS-TACS と TACS-T4 による更なる改善の方向性も明らかにすることができた。

(2) 次世代ゲノムフットプリント法の開発

DMS による in vivo フットプリンティングをゲノムワイドに行う DMS-seq の着想を得て、出芽酵母をモデルに各種条件の最適化を進めた。DMS は 2 本鎖 DNA 中の G と A をメチル化する。メチル化された DNA をポリアミンと APE-1 で処理するとメチル化部位で切断が起こる筈である。実際に in vivo で DMS 処理をした細胞から回収した DNA に上記の反応を行った上でライブラリ化してシーケンスすると、切断部位の 99% は G か A であることを確認した。

得られた断片をマップすると遺伝子間領域、特に転写開始点上流に顕著なピークが形成された。これはヌクレオソームフリー領域に存在する非定型的クロマチン粒子を検出したものと思われた。更に DMS-seq のリードは、様々な転写因子結合モチーフを中心とするピークを形成した。また、DMS 切断点を基準に算出したフットプリントは ChIP-seq ピークとよい相関を示し、刺激によるピークの変動も 因子処理による Ste12 結合部位で確認された。一方、遺伝子体部では DMS-seq のピークが一定間隔で出現する振動パターンを示したが、興味深いことに MNase-seq パターンと位相が逆になっていた (右図)。この結果は、MNase がリンカー DNA を切断するのに対して、DMS がヌクレオソームの中心部 (dyad) を優先的に切断することを示唆する。ヌクレオソーム dyad を最も正確に同定したヒストン変異体を用いる化学修飾法のデータと DMS-seq のデータを比較したところ、dyad が DMS によって優



先的に修飾されることが確認された。したがって、DMS-seq は遺伝子改変なしに直接的にヌクレオソーム中心点を同定できる初めての方法となった。更に酵母のみならずヒト培養細胞 IMR-90 でも CTCF の結合やヌクレオソーム中心の検出が可能であることが確認された。

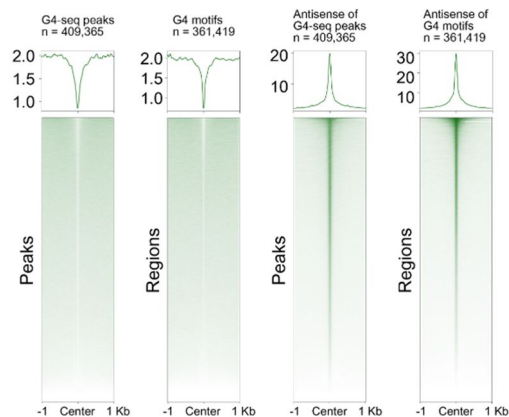
以上より DMS-seq は他の手法にはないユニークな特徴を備えた *in vivo* フットプリント法であることが確認された。DMS-seq におけるピークのアノテーションシステムについても検討を予定していたが、公共 ChIP-seq データを集積した ChIP-Atlas がその機能を代替できることが判明した。

(3) 新規要素技術を用いたセルフリーDNA(cfDNA)解析

TACS は従来の ssDNA 連結技術を遙かに凌駕する効率を示したことから、様々な ssDNA 解析で有用な要素技術になることが期待された。一方、Snyder らにより血中 cfDNA を解析する際に ssDNA ライブラリを作成すると、通常の解析対象であるヌクレオソームサイズの cfDNA よりも短い断片が回収され、それらが転写因子結合部位(TFBS)のフットプリントになることが報告されたため、TACS を血中 cfDNA 解析に応用することとした。

cfDNA に関する基礎情報を得るべく、TdT による 3' 末端標識と変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で cfDNA のサイズ分布を検討する実験系を構築して、各種条件の検討を行った。その結果、ヒト血漿から Proteinase K 処理-フェノール・クロロフォルム抽出-イソプロパノール沈殿 (PPIP 法)によって DNA を回収すると、約 50 nt の ssDNA が鋭いピークを形成すること、つまりヌクレオソームサイズの断片とほぼ同等のモル数存在することが判明した。この断片を cell-free short single-stranded (3S) DNA、略して C3D と命名した。血漿を ssDNA 得的ヌクレアーゼで処理すると、ヌクレオソームサイズの断片が影響を受けないのに対して、C3D は消失したことから、C3D は DNA 回収操作中に生じたものではなく、元来、血漿中に ssDNA で存在していることが示された。興味深いことに、幅広く利用されている市販のカラムベースの DNA 調製キットでは C3D は回収されないし、僅かに回収されても ssDNA 用プロトコルを用いない限りはライブラリ化されることもない。そのため、C3D は従来の研究で完全に見落とされてきたものと思われた。

そこで我々は PPIP 法で回収したヒト血中 cfDNA に対して TACS-T4 法を用いてライブラリを作成し、シーケンシングを行った。得られたデータを解析した結果、C3D に相当する短いリードをゲノムにマッピングするとピークを形成する分画(C3D^{on})と形成しない分画(C3D^{off})に大別されることが分かった。後者は TFBS に富み、Snyder らが報告した短鎖 cfDNA に相当する性質を備えていた。一方、C3D^{on} は G-quadruplex (G4) 構造の相補鎖に富む独特の構成を示した(右図)。C3D^{on} の生成機構や病態生理学的意義は今後の課題であるが、これまで全く報告されていない新しいクラスの cfDNA の存在を明らかにすることができた。



(4) 多重エピゲノム解析の要素技術開発

エピジェネティクスの2大分子機構は DNA メチル化とヒストン修飾であり、両者間の機能的連関も明らかにされている。しかしながら、両者に関する情報は、同一試料を分割して、それぞれの方法で取得されている。そのため、同一染色体上における両者の関係は明らかではない。この問題を克服するための方法として、我々はヒストン修飾情報を DNA メチル化に変換して、内在性メチル化情報と一緒に読み出す方法を考案した。具体的には、ヒストン修飾のリーダータンパク質ないし特異的抗体に DNA メチル基転移酵素(DNMT)を融合させておき、ヒストン修飾の近傍の DNA をメチル化した上で、メチローム解析を行うというものである。この発想は H3K9me を認識するドメインを持った DNMT が DNA をメチル化することによって、H3K9me と DNAm の分布が一致する Neurospora のエピゲノム解析からヒントを得たものであった。

当初は DNMT として GATC 中の A の 6 位をメチル化する Dam の利用を検討した。具体的には、DpnI と DpnII で切断して作成したライブラリをシーケンスして、末端修復パターンの違いでメチル化部位と非メチル化部位を識別する DamID-seq を開発した。この方法を用いて、dCas9-Dam を発現した酵母で標的部位近傍のメチル化の検出を行った。また、ナノポアシーケンサー MinION による直接検出の検出も並行して行った。

その後、ヒストン修飾の多重検出を行うため、異なる配列コンテキストで C の 5 位をメチル化する酵素の利用を検討した。哺乳類のメチル化は主として CG に起こる。これまでに GC メチレーズを用いてクロマチンアクセシビリティと内在性メチル化を同時に検出する NOME-seq が報告されている。GC 部位のうち、GCG 配列については人工的に導入した GC メチル化と内在性 CG メチル化の識別ができない。そこで CG とは重ならない認識配列を持った DNMT の検索を行うこととした。具体的には、細菌の CG メチレーズおよび GC メチレーズと相同性を有する配列をデータベースから検索し、それらの人工遺伝子を大腸菌で発現させて、その発現株のゲノム DNA に対して tPBAT による WGBS を行うことで認識配列を同定することとした。この実験系を用いてスクリー

ニングを行った結果、これまでに報告のない新しい認識配列を有する DNMT を同定することができた。この酵素を精製して単離核に作用させたところ、NOMe-seq が可能であることを確認された。よってこの酵素はヒストン修飾の DNA メチル化エンコーディングに利用可能であると考えられ、ヒストン修飾エンコーダー分子を構築するための基盤が整備された。

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 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Inoue K, Araki H, Miura F, Ito T.	4. 巻 27
2. 論文標題 Transcriptome dynamics during cholesterol-induced transdifferentiation of human coronary artery smooth muscle cells: A Gene Ontology-centric clustering approach	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 101061
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2021.101061	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 Hisano O, Ito T, Miura F.	4. 巻 19
2. 論文標題 Short single-stranded DNAs with putative non-canonical structures comprise a new class of plasma cell-free DNA	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 225
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12915-021-01160-8	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 Sangatsuda Y, Miura F, Araki H, Mizoguchi M, Hata N, Kuga D, Hatae R, Akagi Y, Amemiya T, Fujioka Y, Arai Y, Yoshida A, Shibata T, Yoshimoto K, Iihara K, Ito T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Base-resolution methylomes of gliomas bearing histone H3.3 mutations reveal a G34 mutant-specific signature shared with bone tumors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-73116-x	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 Miura F, Shibata Y, Miura M, Sangatsuda Y, Hisano O, Araki H, Ito T.	4. 巻 47
2. 論文標題 Highly efficient single-stranded DNA ligation technique improves low-input whole-genome bisulfite sequencing by post-bisulfite adaptor tagging.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 e85
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/nar/gkz435.	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 Araki H, Miura F, Watanabe A, Morinaga C, Kitaoka F, Kitano Y, Sakai N, Shibata Y, Terada M, Goto S, Yamanaka S, Takahashi M, Ito T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Base-Resolution Methylome of Retinal Pigment Epithelial Cells Used in the First Trial of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Based Autologous Transplantation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 761-774
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2019.08.014.	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 Miura F, Fujino T, Kogashi K, Shibata Y, Miura M, Isobe H, Ito T	4. 巻 46
2. 論文標題 Triazole linking for preparation of a next-generation sequencing library from single-stranded DNA.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 e95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gky452.	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 Umeyama T, Ito T	4. 巻 123
2. 論文標題 DMS-seq for In Vivo Genome-Wide Mapping of Protein-DNA Interactions and Nucleosome Centers.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Protocols in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 e60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cpmb.60.	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 Umeyama T, Ito T	4. 巻 21
2. 論文標題 DMS-Seq for In Vivo Genome-wide Mapping of Protein-DNA Interactions and Nucleosome Centers.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 289-300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2017.09.035.	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 Miura F, Ito T	4. 巻 1708
2. 論文標題 Post-Bisulfite Adaptor Tagging for PCR-Free Whole-Genome Bisulfite Sequencing.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 123-136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-7481-8_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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 伊藤隆司
2. 発表標題 ポスト\$1000ゲノム時代のDNAメチル化解析
3. 学会等名 第14回日本エピジェネティクス研究会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤隆司、三浦史仁
2. 発表標題 次世代型PBATによる一細胞メチローム解析への挑戦
3. 学会等名 第29回日本サイトメトリー学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤隆司
2. 発表標題 Novel sequencing methods to read the epigenome
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤隆司
2. 発表標題 エピゲノムを読み解く：医工連携への期待
3. 学会等名 第46回日本臨床免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤隆司
2. 発表標題 PBATによる極微量メチロームシーケンシング
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第62回大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Ito
2. 発表標題 Epigenome sequencing methods for comprehensive analysis of in vivo protein-DNA interactions and DNA methylation
3. 学会等名 The 1st International Symposium for Trans-Omics（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

細胞内におけるタンパク質-DNA相互作用の全体像を捉える新しい方法を開発
<http://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/185>

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	梅山 大地 (Umeyama Taichi) (30706370)	国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・ 研究員 (82401)	
研究分担者	荒木 啓充 (Araki Hiromitsu) (60572823)	九州大学・経済学研究院・助教 (17102)	

	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	三浦 史仁 (Miura Fumihito)	九州大学・医学研究院・准教授 (17102)	

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