

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02606

研究課題名（和文）脳リンパ流の生理とその破綻による高次脳機能低下メカニズムの解明

研究課題名（英文）Physiology relevance of cerebral lymphatic flow and the mechanism of higher brain dysfunction due to its breakdown

研究代表者

安井 正人（Masato, Yasui）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授

研究者番号：90246637

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）：脳にはリンパ流が存在しないと考えられていたが、最近、グリア細胞、特にアクアポリン4（AQP4）がその役割を担っている可能性が示された。そこで、我々が独自に開発した非線形光学顕微鏡を用いて、水分子そのものをライブで観測することで、脳組織の水動態を可視化することに成功した。一方、脳のリンパ排泄の異常は、アミロイド（A β ）の異常蓄積にも繋がり、アルツハイマー病との関与も疑われる。アルツハイマー病マウスモデルとAQP4欠損マウスを掛け合わせ事、マウスが早期に著明な異常行動を示すことを発見した。これらの成果はアルツハイマー病に対する新たな早期診断・治療法の開発に繋がることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、AQP4の発現や機能を維持することで、アルツハイマー病の進行を遅らせ、更には改善を図るといふこれまでとは全く異なる治療戦略の創出を促す可能性がある。また、脳のリンパ排泄機構を直接可視化する技術の向上をもたらすと考えられ、将来的な特異的な造影技術の開発と相まって、様々な脳疾患の診断法の発展、中枢神経に作用する薬物の動態の可視化及び制御に関する革新的な技術開発につながると期待される。脳のリンパ排泄機構の理解は脳アミロイド血管症やその他の神経変性疾患の理解にもつながり、認知症にとどまらず今後益々高齢化が進む我が国の社会的負担を大幅に軽減するとともに国民の福祉の向上にも大きく寄与する。

研究成果の概要（英文）：Lymphatic flow was thought to be absent in the brain, but it has recently been shown that glial cells, especially aquaporin 4 (AQP4), may play a role. Here we succeeded in visualizing the water dynamics of brain tissue by observing the water molecules themselves using a nonlinear optical microscope that we originally developed. Abnormal lymphatic excretion in the brain leads to abnormal accumulation of amyloid (A β), and its involvement with Alzheimer's disease is suspected. By crossing an Alzheimer's disease mouse model with an AQP4-deficient mouse, we found that the mice showed marked abnormal behavior at an early stage. These results are expected to lead to the development of new early diagnosis and treatment methods for Alzheimer's disease.

研究分野：神経科学

キーワード：アクアポリン 脳リンパ排泄 非線形光学 アルツハイマー病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々の身体の約 2/3 は水分子で構成されている。体液(水・電解質)調節は、個体の機能維持に必須である。実際、心不全など多くの疾患で体液調節の異常が認められる。驚くべきことに脳における体液調節の仕組みはほぼ未解明のままであったが、最近「脳リンパ流」が存在することを示唆する証拠が相次いで報告された。中でも Nedergaard らが 2013 年に提唱した「**glymphatic system**」では、水チャネル、アキアポリン 4 (AQP4) が関与している可能性、睡眠によって制御されている可能性が示唆された(1)。AQP4 は哺乳類の脳に主に発現していて、グリア細胞、アストロサイトの終足(血管周囲空間とのインターフェースおよび脳室周囲)にあることから、脳の体液調節に関与している可能性が以前より示唆されていた。しかしながら「**glymphatic system**」は、まだ概念的な要素が多く、その実態は十分に把握されていない。例えば 1) 脳リンパの流れが観測されていない、その方向性や経路(細胞内外)に関しても諸説が混在している、2) AQP4 が脳リンパ流に関与している直接的な証拠が欠如している、3) 睡眠あるいは自律神経系の制御がいかに脳リンパ流に影響を与えるか、そのメカニズムが不明、4) その破綻と病態あるいは疾患との関係も未だ明らかではない、などといった重要な未解決課題を残していた。特にアルツハイマー病の病体との関連は、その重要性からも注目を集めつつある。

2. 研究の目的

- (1) 非線形光学ライブイメージング技術で「脳リンパ流」を可視化し、特に脳リンパ流への関与が示唆されている AQP4 との関連に着目して解析する。
- (2) ゲノム編集技術や AQP4 欠損マウスを用いて「脳リンパ排泄破綻」による精神・神経疾患モデルマウスを独自に開発し、生化学的解析/行動解析/イメージング解析など多角的にその病態を解明する。

3. 研究の方法

(1) 脳リンパ流の可視化

非線形光学顕微鏡を用いた脳実質内の直接的な水移動の追跡：特定の官能基を検出することで分子を非ラベルで検出するラマン顕微鏡の感度を飛躍的に増強させた非線形ラマンである CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) 顕微鏡、及び SRS (stimulated Raman scattering) 顕微鏡を用いてマウス急性脳スライスにおける脳実質内の水分子動態(OH 伸縮振動)を追跡する。

2 光子顕微鏡を用いた血管周囲間隙の可視化：CAG - GFP マウスの右大腿動脈にカテーテルを挿入し、左脳の頭蓋骨に 3 mm 程度の閉鎖頭窓を作成する。水中毒は体重の 10% 量の水を腹腔内投与により誘導し、その前後の血管周囲腔(paravascular space、PVS)とアストロサイトの形態を 2 光子励起蛍光顕微鏡により観察する。

(2) 脳リンパ排泄機構の破綻による病態マウスモデルの作製及び解析

ゲノム編集による新規アルツハイマー病モデルの作製と AQP4 との交配によるリンパ排泄機構破綻モデルの構築：脳実質にアミロイドプラークを溜める 5xFAD マウス、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) 遺伝子座にヒト A β 配列及び A β の産生を亢進させる NL 変異、酵素的分解に耐性となり脳アミロイド血管症を引き起こす QN 変異をノックインし、脳リンパ排泄機構の破綻に感受性の高いと考えられるマウスを作出する (APP-NL-QN)。これらを AQP4 欠損マウスと交配することにより脳内への A β 蓄積がリンパ排泄機構の破綻により受ける影響を検証する。

新規脳アミロイド血管症/脳リンパ排泄破綻モデルによる AQP4 欠損の影響：A β の蓄積場所を老人斑、血管壁、間質液の 3 つに分け、老人斑と血管壁については脳透明化技術を用い、A β の蓄積を三次元的に観察する。間質液中の A β の蓄積は、マイクロダイアリシスによる可溶性 A β のサンプリング、ELISA 法による定量化を行う。

4. 研究成果

(1) 脳リンパ流の可視化

非線形光学顕微鏡を用いた脳実質内の直接的な水移動の追跡

我々は、高い時空間分解能を持ち官能基識別能を有するコヒーレントラマン顕微鏡を利用して、脳組織内における水分子の動態を明らかにすることを目的として研究を進めた。当初は CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) 顕微鏡を用いていたが、最近独自に開発した SRS (stimulated Raman scattering) 顕微鏡の方が S・N 比を高めることが確認できたので、本研究においても SRS シグナル検出型マルチモダル多光子顕微鏡システムを用い、脳組織における水動態の可視化研究を進めることとした。はじめに、SRS により定量的に水の濃度を計測できるかを検証した。そのため、軽水 (H_2O) と重水 (D_2O) の混合溶液を標準液とし、その SRS シグナルを計測した。我々の以前の報告 (1) を基に O-H のシグナルは $3,400\text{cm}^{-1}$ のラマンシフトの部分を、O-D のシグナルは文献 (2) を基に $2,400\text{cm}^{-1}$ ラマンシフトのシグナルを計測した。その結果、軽水の濃度の上昇と共に SRS の O-H に対応するラマン散乱シグナルは上昇し、また、重水濃度の上昇に従って今度は O-D に対応するラマン散乱シグナルが上昇すること、それらが線形に非常に近い関係を持っていることが確かめられた。

次に、このシステムを用いて、脳組織内外の水の可視化を試みた。このため、マウス大脳皮質より厚さ 300 μm の急性脳スライスを作成し、それをマルチモダル多光子顕微鏡に設置した温度制御チャンバーに移し、35 $^{\circ}\text{C}$ 付近で、生きた状態で可視化した。O-H シグナル ($3,400\text{cm}^{-1}$) の可視化を実現するため、固定波長の Stokes 光 ($1,031\text{nm}$) に対してポンプ光を 764nm に設定した。また、SRS 観測に用いるレーザーによる蛍光色素の 2 光子励起を用いて細胞の形態を同時に可視化することを試みた。そのため、脳スライスを、細胞全般に取り込まれる Calcein Blue およびグリア細胞の一種であり水の制御への役割が示唆されるアストロサイトに特異的に取り込まれる Sulforhodamine 101 (SR101) により染色し、水 (O-H) の SRS シグナルと共に、SR101 の 2 光子励起により、アストロサイトの細胞の構造を可視化した。

以上から、脳組織において、アストロサイトの構造と共に水のシグナルを捉えることができることが明らかとなった。そこで、軽水と重水を高感度で区別できるという溶液での結果を踏まえ、細胞外液を軽水 100% のものから重水を含んだものに変換することで、水の動態を O-H ラマン散乱シグナルの減少から捉えるということを試みた。ここで、予備実験から、軽水を完全に重水に置換すると組織のサイズに大きな変化が起こり、経時的に同じ部位で捉えることが困難であることが明らかとなったため、導入する重水は全体の 25% とした。更に、水と共に溶質の動態も可視化すべく、重水を含む細胞外液に水溶性で比較的分子量の小さい緑色の蛍光色素 (Alexa Fluor 488 Hydrazide) を同時に入れ、この 2 光子励起蛍光による観測も試みた。この結果を図 1 に示す。

ここで、上画像の左側が脳の組織外で、脳表を挟んで、右側に向かって大脳皮質の第 1 層から III 層程度までが可視化されていることが、SR101 のシグナルから分かる。この同じ部位を可視化しながら重水を導入すると、下左図のように水のシグナル (黒線) が減少する、つまり、重水が入ってきたことが分かる。そしてそれと同時に、蛍光色素が入ってきたことが分かる (赤線)。これらの時間経過をよりよく比較するため、O-H シグナルを反転させたものが下右図である。ここから、細胞外 (ROI 0) では水と色素がほぼ同時に流入すること、しかし脳の組織の内部に入るに従ってその速度が遅くなること、更に、深部になるほど色素の流入速度が水に比べて遅くなることが見て取られた。これらは、脳組織内における水と溶質の動態を示したものとなり、このマルチモダル顕微鏡観測により初めて明らかにすることができたものと考えられる。

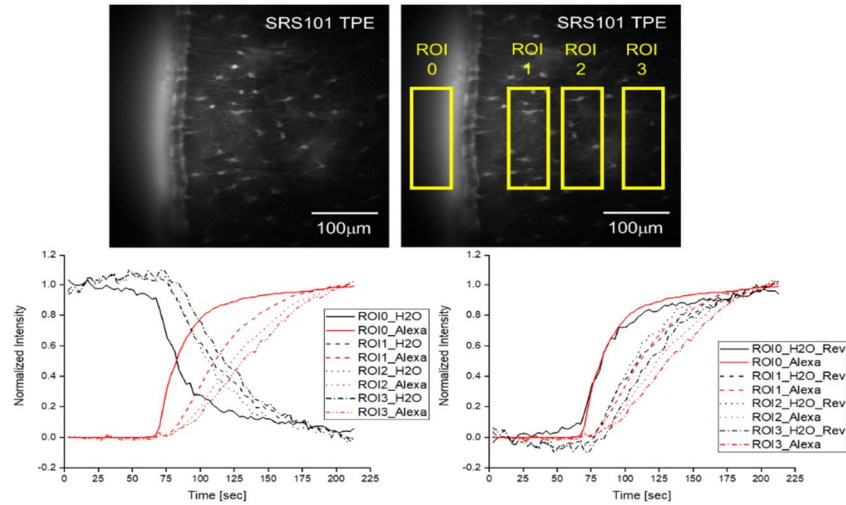


図 1 . 急性脳スライスを用いた脳実質における水動態

血管周囲腔（PVS）の可視化と定量化

脳の血管周囲腔（PVS）は、リンパ排泄の経路とも考えられているが、様々な仮説が提唱されており、まだ一定の見解は得られていない。そこで、我々は2光子励起顕微鏡を用いてPVSをライブイメージングし、更に定量化することを試みた。用いたマウスはCAG-GFPマウスで、このマウスは全身全ての細胞でGFPを発現している。従って、PVSは蛍光を発しないスペースとして観察することができる。PVSの変化が最も著名に観察される可能性として、我々は水中毒モデルを用いた。更に野生型マウスとAQP4欠損マウスを比較することで、脳浮腫の病態におけるPVSの変化のみならず、AQP4の役割も解析した。水中毒直前、20分後、40分後の様子を観察したところ、野生型マウスでは20分後からPVSの容積が減少するのに対し、AQP4欠損マウスではその変化がほとんど見られないことが確認できた（図2）。現在、3次元でPVSの容積を定量化する解析技術を開発中である。

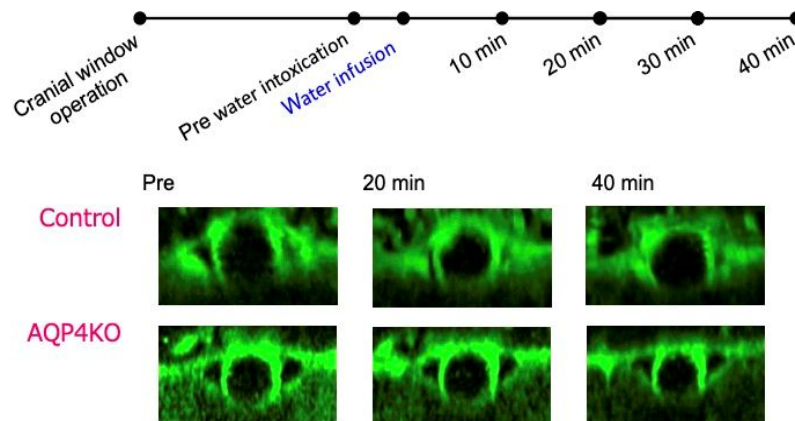


図 2 . 脳浮腫における PVS の変化（野生型と AQP4 欠損マウスの比較）

(2) 脳リンパ排泄機構の破綻による病態マウスモデルの作製及び解析

5xFAD による検討

アミロイド蓄積後のアルツハイマー病病態におけるAQP4の意義を検証するため、脳実質にアミロイドプラークを溜めるタイプのアルツハイマー病モデルである5xFADにAQP4を欠損し、その表現型を解析した。5xFADはA₄₂を大過剰に産生し脳実質に急速にアミロイドプラークを蓄積するため、Aのクリアランスにリンパ排泄機構はほとんど関与しないと考えられる。従っ

て、このモデルの場合 AQP4 の機能がリンパ排泄機構において重要な役割を果たしていたとしても、AQP4 の欠損はアミロイドプラークの蓄積には影響がないと予想された。実際にこのモデルを用いて AQP4 を欠損させたが、アミロイドプラークの蓄積量に変化はなく、そのプラークにตอบสนองしたミクログリアやリアクティブアストロサイトの集積にも影響がなかった。また、マイクロダイアリスにより可溶性 A β の蓄積を検討したが、有意差を見出すことはできなかった。一方で、透明化技術を用いて、3次元で A β の蓄積を解析したところ、AQP4 の欠損により、血管周囲への A β の沈着が明らかに増加することを見出した（未発表データ）。更に、てんかん用の異常神経活動が急激に悪化し、夜間の活動の低下や痙攣発作が現れるという表現系を見出すこともできた。以上のことから、このモデルにおいては AQP4 の欠損はアミロイドプラークの蓄積以外のなんらかの脳内環境の変化をもたらし、急激な病的変化を引き起こしたと考えられた。

APP-NL-G-F による検討

これまで、5xFAD マウスを用いて解析を行ってきたが、APP、PS1 をともに過剰発現するモデルであるトランスジェニックマウスであることから、得られた結果が本来の病態と乖離している可能性が指摘されている。この問題を解決するため、理研の西道博士らのグループは APP の A β の領域をヒト化した上で、複数の家族性アルツハイマー病変異を導入することによって、PS1 の過剰発現がなく、内在性の APP の発現量で早期からアミロイドプラークが蓄積するモデルを作製した（APP-NL-G-F）。このモデルを用いて、5xFAD で見出された病態の普遍性を検証していく。このマウスは AQP4 欠損との交配を進め、解析が始められるところまで準備できた。

APP-NL-Q-N による検討

AQP4 の欠損が、実際に A β のクリアランスに関わるかどうかを検証することが我々の目的の一つであることから、この目的にふさわしいモデルの作製が望まれていた。このモデルを実現するため、我々は脳出血を起こしやすい家系に見出された APP の変異（Dutch 変異、Iowa 変異）に着目した。この家系では早期から脳の血管壁にアミロイドが沈着する（脳アミロイド血管症、CAA）ことが知られている。そこで、実中研と共同で、上述の NL-G-F モデルの前駆モデルである NL マウスに対し、ゲノム編集により A β 配列の中央部分に Dutch 変異、Iowa 変異を導入したマウス（NL-Q-N）の作製を進めた。今後 AQP4 KO との交配を進め、NL-G-F マウスと比較しながら AQP4 の A β のクリアランスにおける役割を明らかにしていく予定である。

引用文献：

1. Xie L, et al., Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science*. 18; 342(6156): 373-7 (2013)
2. Nuriya M, et al., Characterization of Intra/Extracellular Water States Probed by Ultrabroadband Multiplex Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) Spectroscopic Imaging. *J. Phys. Chem. A.*, 123 (17): 3928-34 (2019)
3. Abramczyk H, et al., The cellular environment of cancerous human tissue. Interfacial and dangling water as a ‘ ‘hydration fingerprint’ ’. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.*, 129:609-23 (2014)
4. Abe Y, et al., Behavioral and electrophysiological evidence for a neuroprotective role of aquaporin-4 in the 5xFAD transgenic mice model. *Acta Neuropathol Commun.* 12;8(1):67 (2020)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Monai H, Wang X, Yahagi K, Lou N, Mestre H, Xu Q, Abe Y, Yasui M, Iwai Y, Nedergaard M and Hirase H	4. 巻 116 (22)
2. 論文標題 Adrenergic Receptor Antagonism Induces Neuroprotection and Facilitates Recovery from Acute Ischemic Stroke.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	6. 最初と最後の頁 11010-11019
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1817347116	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 Ozawa Y, Toda E, Kawashima H, Homma K, Osada H, Nagai N, Abe Y, Yasui M, Tsubota K	4. 巻 56 (12)
2. 論文標題 Aquaporin 4 Suppresses Neural Hyperactivity and Synaptic Fatigue and Fine-Tunes Neurotransmission to Regulate Visual Function in the Mouse Retina.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Neurobiol.	6. 最初と最後の頁 8124-8135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12035-019-01661-2	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 Mestre H, Hablitz LM, Xavier AL, Feng W, Zou W, Pu T, Monai H, Murlidharan G, Castellanos Rivera RM, Simon MJ, Pike MM, Pla V, Du T, Kress BT, Wang X, Plog BA, Thrane AS, Lundgaard I, Abe Y, Yasui M, Thomas JH, Xiao M, Hirase H, Asokan A, Iliff JJ, Nedergaard M.	4. 巻 7
2. 論文標題 Aquaporin-4-dependent glymphatic solute transport in the rodent brain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 elife	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) 10.7554/eLife.40070	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 Obata T, Kershaw J, Tachibana Y, Miyauchi T, Abe Y, Shibata S, Kawaguchi H, Ikoma Y, Takuwa H, Aoki I, Yasui M	4. 巻 8(1)
2. 論文標題 Comparison of diffusion-weighted MRI and anti-Stokes Raman scattering (CARS) measurements of the inter-compartmental exchange-time of water in expression-controlled aquaporin-4 cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.,	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) 10.1038/s41598-018-36264-9.	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 Nuriya M, Yoneyama H, Takahashi K, Leproux P, Coudrc V, Yasui M, Kano H.	4. 巻 123 (17)
2. 論文標題 Characterization of Intra/Extracellular Water States Probed by Ultrabroadband Multiplex Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) Spectroscopic Imaging.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. A.	6. 最初と最後の頁 3928-3934
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpca.9b03018. Epub 2019 Apr 22.	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 該当する

1. 著者名 Watanabe-Matsumoto S, Moriwaki Y, Okuda T, Ohara S, Yamanaka K, Abe Y, Yasui M, and Misawa	4. 巻 133
2. 論文標題 Dissociation of blood-brain barrier disruption and disease manifestation in an aquaporin-4-deficient mouse model of amyotrophic lateral sclerosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neurosci.Res.	6. 最初と最後の頁 48-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2017.11.001.	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 Vandebroek AA, Yasui M.	4. 巻 26;21(5)
2. 論文標題 Regulation of AQP4 in the Central Nervous System.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 1603-1603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21051603.	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 Abe Y, Ikegawa N, Yoshida K, Muramatsu K, Hattori S, Kawai K, Murakami M, Tanaka T, Goda W, Goto M, Yamamoto T, Hashimoto T, Yamada K, Shibata T, Misawa H, Mimura M, Tanaka KF, Miyakawa T, Iwatsubo T, Hata J, Niikura T, Yasui M.	4. 巻 12;8(1)
2. 論文標題 Behavioral and electrophysiological evidence for a neuroprotective role of aquaporin-4 in the 5xFAD transgenic mice model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathol Commun.	6. 最初と最後の頁 67-67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-020-00936-3.	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18件（うち招待講演 12件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 脳内における水のダイナミクスとアクアポリン4
3. 学会等名 日本神経病理学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 アクアポリンと脳水流のダイナミクス
3. 学会等名 第15回北海道大学医学研究院連携研究センター研究成果発表会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安井 正人
2. 発表標題 アクアポリン研究の最前線～病態生理の理解から新たな診断・治療法の開発まで～
3. 学会等名 実中研アクアポリンシンポジウム CIEA In vivo Experimental Medicine Symposium（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 New insight into aquaporin function as drug targets
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 アクアポリン4 (AQP4)と神経変性疾患の病態生理
3. 学会等名 第30回日本免疫学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 Pathological roles of aquaporin-4 in neurodegenerative diseases
3. 学会等名 Third Annual Stanford / Kanagawa Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 Roles of aquaporin-4(AQP4) in brain lymphatic system and in neurodegenerative diseases
3. 学会等名 日本微小循環学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 水分子の生物学・医学: 医工連携による生命現象のより深い理解を目指して!
3. 学会等名 慶應義塾大学理工学部創立80年記念イベント 医工連携シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井正人
2. 発表標題 生命金属とタンパク質による細胞機能の協奏的制御
3. 学会等名 日本蛋白質科学会・日本細胞生物学会合同年次大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 Compound for generating second harmonic of light, dye composition for generating second harmonic of light, and cell examination method	発明者 塗谷睦生、安井正人、新井達郎、百武篤也、福嶋瞬	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2014/063754/	取得年 2018年	国内・外国の別 外国

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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