

令和 5 年 4 月 26 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03725

研究課題名(和文) HIV-1潜伏感染におけるfibrocytesおよびマクロファージの意義の解明

研究課題名(英文) Importance of fibrocytes and macrophages as HIV-1 reservoirs

研究代表者

鈴 伸也 (Suzu, Shinya)

熊本大学・ヒトレトロウイルス学共同研究センター・教授

研究者番号：80363513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：HIV-1の単球への潜伏感染が問題となっているが、本研究ではCD34陽性の単球(fibrocytes)は通常の単球よりHIV-1に高感受性である事を明らかにした。まず未治療の感染者fibrocytes中のプロウイルスDNA頻度は高く、治療後に血中ウイルスが検出限界以下の感染者fibrocytesでも検出された。Fibrocytesは末梢血に加えリンパ節にも存在し、どちらもHIV-1受容体、そして細胞がリンパ節に出入りする際に重要な分子CCR7とS1PR1を高発現した。以上から、fibrocytesがHIV-1高感受性と末梢-組織循環能によりリンパ節で残存HIV-1に感染する可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HIV-1の克服には潜伏感染細胞の排除が重要である。静止期CD4+ T細胞以外にも近年、単球への潜伏感染も分かってきた。本研究では単球中ではfibrocytesに潜伏感染しやすいことを明らかにした。さらに、長期に抗レトロウイルス療法を行い、血中ウイルス量が検出限界以下になった感染者において、なぜ末梢fibrocytesにHIV-1ウイルスゲノムが存在し得るのかは不明であったが、この根源的な疑問にも一定の答えを出せた。並行して進めた組織マクロファージ解析も合わせ、ミエロイド系の細胞に関する一連の発見はHIV-1潜伏感染細胞の完全排除に向けて、有用かつ重要な情報と期待される。

研究成果の概要(英文)：Like CD4+ T cells, monocytes serve as HIV-1 reservoirs. Here we show that a monocyte fraction expressing CD34 (= fibrocytes) is more susceptible to HIV-1 infection than CD34-negative major subset. In viremic patients, CD34+ fraction harbored more proviruses. When compared to the major subset, CD34+ fraction expressed HIV-1 receptors CD4 and CCR5 at higher levels and HIV-1 restriction factors MX2 and SAMHD1 at lower levels. Proviruses were also detected in CD34+ fraction of virologically-suppressed patients. CD34+ monocytes were present in lymph nodes, and expressed CD4 and CCR5 at higher levels than the major subset, as in peripheral blood. Those CD34+ monocytes highly expressed CCR7 and S1PR1, critical regulators of in vivo cellular trafficking. Our findings suggest that CD34+ monocytes are infected with residual HIV-1 after migrating into tissues including lymph nodes and return to circulation, which explains the detection of proviruses in the cells even after long-term ART.

研究分野：血液学

キーワード：潜伏感染 HIV-1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

HIV-1 感染症の課題：潜伏感染

HIV-1 の増殖は薬剤で抑えられるようになったものの、感染者は生涯服薬を強いられているのが現状である。これは、一部のウイルスが潜伏感染し、完全に排除しきれないからである。静止期の CD4⁺T 細胞での潜伏感染がよく知られているが、排除する治療法はまだない。そして、静止期 CD4⁺T 細胞以外での潜伏感染も明らかとなっているものの、細胞としての実体にはまだ不明の点が多い。そのため、CD4⁺T 細胞と並ぶ HIV-1 の主要標的「単球およびマクロファージ」に着目した研究の重要性が高まっている。

私達の知見：HIV-1 が高頻度に潜伏感染する単球サブセット fibrocytes の発見

私達はこれまで、HIV-1 と単球やマクロファージとの相互作用について研究してきた (Blood 2005, 2008; Cell Death Differ 2010; J Immunol 2012, 2014, 2016; Cell Death Dis 2014; PLoS Pathog 2018 他)。その過程で、感染者の単球の中には、幹細胞マーカー CD34 が陽性のサブセット fibrocytes に圧倒的な高頻度で HIV-1 が感染していることを発見した (J Immunol 2015: 国立国際医療研究センター岡先生・瀧永先生、熊大滝口先生との共同研究)。近縁のウイルス SIV を感染させたサル解析でも同じ結論を得てきた (未発表: 感染研俣野先生との共同研究)。一方、基盤研究 B などの研究から、fibrocytes が HIV-1 潜伏感染に至ること、つまり、長期 (>2 年) 治療して血中ウイルス量が検出限界以下となった感染者の fibrocytes 中にプロウイルス (染色体の中に組み込まれたウイルスゲノム) を検出してきた (国内外の学会などで発表)。重要なことにそのプロウイルス検出頻度は静止期 CD4⁺T 細胞と同程度であった (共に 16 例中 11 例が陽性)。更には、静止期 CD4⁺T 細胞だけ陽性の症例 (2 例) のみならず、fibrocytes だけ陽性の症例 (同じく 2 例) も認められた。以上から、症例数の追加や定量的な解析など、fibrocytes についてもっと踏み込んだ研究が必要となってきた。

私達の知見：潜伏感染研究に有用なヒト組織常在マクロファージの純化法確立

感染者陰茎では HIV-1 は CD4⁺T 細胞ではなく、マクロファージに潜伏感染するなど (Ganor et al, Nat Microbiol 2019) マクロファージに着目した潜伏感染研究の重要性も高まっている。一方、私達も確認してきたように (J Immunol 2014, 2016 他) マクロファージは *in vitro* では「潜伏」ではなく、低レベルでウイルスを産生する「持続」感染細胞と捉えられている。この乖離は培養系にも一因があると予想される。HIV-1 領域に限らず、初代マクロファージの実験では単球を M-CSF などのサイトカインで数日間培養して分化誘導する調製法が一般的で、組織マクロファージを使っている訳ではない。更に近年、そもそも組織マクロファージは単球由来の集団に加え、単球に由来せず胎児期から常在する集団の 2 種類から構成されることも発見された (総説例: Sieweke et al, Science 2013)。単球および 2 つの組織マクロファージのマーカーも徐々に同定されており、私達もマウス骨髄 (投稿中) やヒト腹水からそれら集団を純化してきた (未発表)。なお、腹水は進行がん (胃がんなど) の患者より苦痛緩和目的で採取されたものを用いている (熊大消化器外科石本先生との共同研究)。これら真の組織マクロファージを用いて HIV-1 との相互作用を改めて解明する研究が必要となってきた。

2. 研究の目的

核心をなす学術的「問い」

以上の学術的背景・必要性と私達が積み重ねてきた知見をふまえ、以下の 2 つを、核心をなす学術的問いとして推進する。

問い：私達が単球中の主要な HIV-1 潜伏感染細胞として同定してきた fibrocytes は、静止期 CD4⁺T 細胞と比較して如何に重要か? その潜伏感染は如何に解除できるか?

問い：私達が純化してきた 2 種類の組織常在マクロファージに、HIV-1 は如何に潜伏感染するか? それは旧来の実験系から得られた結果と如何に違うか?

本研究の目的

目的：潜伏感染細胞としての fibrocytes の重要度を定量的に証明する

これまでの研究から、fibrocytes が静止期 CD4⁺T 細胞に匹敵する重要な潜伏感染細胞であり、症例によっては (12.5% : 16 例中 2 例) fibrocytes に高頻度に潜伏感染する可能性を見出してきた。この点を本研究で実証する。つまり、確実に結論するため症例数を 50 例程度に増やし、従来の定性的な解析を定量的な解析へ変更する (一定の細胞数中のプロウイルスの「有無」→「コピー数」を実測)。近縁ウイルス SIV 感染後に長期治療したサルモデルでも検証する (末梢血およびリンパ節)。

目的：Fibrocytes の潜伏感染を解除する方法を確立する

近年、潜伏感染を強制的に解除して免疫で排除することを狙った治療法 (Shock & Kill) が期待されており、そのための様々な機序の薬剤 (Latency Reversing Agents: LRA) の探索が活発になされている。一方で、静止期 CD4⁺T 細胞やそのモデル細胞に有効な LRA が必ずしも他の潜伏感染細胞に当てはまらない懸念も指摘されている。そこでこれら LRA の潜伏感染 fibrocytes に対

する効果、その静止期 CD4⁺ T 細胞との相違を明らかにする。

目的 : 2 種類のヒト組織常在マクロファージと HIV-1 の相互作用を明らかにする

前述の陰茎の解析例はあるが、感染者組織マクロファージへのアクセスは容易ではない。そのため、腹水などから組織常在マクロファージが分離できるようになったのはメリットが大きい。旧来の、単球を培養して調製したマクロファージよりも、生体に近い条件が作れる。そこで、腹水に存在する起源の異なる 2 種類の組織マクロファージを分離・HIV-1 を感染させ、その後の HIV-1 感染動態および細胞の生存率などを明らかにする。

3. 研究の方法

柱 : Fibrocytes の潜伏感染細胞としての重要度を、静止期 CD4⁺ T 細胞との比較から定量的に明らかにする (感染者および感染サル)

- (1) 長期治療後の HIV-1 感染者末梢血から fibrocytes (CD45⁺CD3⁻CD14⁺CD34⁺) と静止期 CD4⁺ T 細胞 (CD4⁺CD25⁻CD69⁻HLA-DR⁻) をソーティング純化してプロウイルスを PCR で増幅する。従来的一定細胞数中にプロウイルスがあるかないかの定性解析ではなく、細胞数を段階希釈して、1 コピー検出するのに必要な細胞数を各々について算出する。世界標準に合わせ治療開始後 2 年以上、血中ウイルス量が検出限界以下の感染者 50 例で行う。細胞純化は BSL3 実験室で行い、セルセーターは Aria II を用い、PCR では *gag* および *pol* 領域を標的とする。増幅後、ゲノム配列も解析し、2 つの細胞に同じウイルスが潜伏感染するかも推定する。
- (2) 上記の結果が組織でも同じかを確認するために、近縁ウイルス SIV を感染させ、血中ウイルス量が高値を示した後、長期治療して検出限界以下になったカニクイザルのリンパ節でも同様の解析を行う。対照として末梢血も解析に加える。2~3 頭で解析するが検体は研究協力者が調製済みであり (後述の研究体制の項参照) fibrocytes および静止期 CD4⁺ T 細胞ともに純化できることを確認している。

柱 : Fibrocytes の潜伏感染を効率的に解除する方法を確立する

- (1) 長期治療後の感染者から純化した fibrocytes と静止期 CD4⁺ T 細胞に種々の LRA を添加し、*nef* などを標的として qRT-PCR で定量することでどれが潜伏感染を解除するかを評価する。LRA としてはヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤、プロテインキナーゼ C (PKC) 活性化化合物、プロモドメイン (BRD) 阻害化合物、サイトカイン、TLR および STING リガンドなどを用いる。作用機序が異なる LRA の組み合わせも行う。産生されたウイルスが感染性であるかも、既に確立してきた、多種の標的細胞系で調べる。プロウイルスには欠失など、不完全なものも多く、そのため HIV-1 mRNA の発現はみられるものの感染性ウイルスが検出されないことも予想されるので、その場合は感染者から経時的に得られる検体をプールしてより多くの細胞数から出発した解析を行う。
- (2) ヒト末梢血から調製する初代培養 fibrocytes も用いて、HIV-1 に感染させた後、上記と同様の解析を行う。十分な細胞数が確保できるため、qRT-PCR ではなく ELISA で定量する。なお、この培養系では BRD 阻害化合物 JQ1 で潜伏感染を解除できることを確認している。

柱 : 2 種のヒト組織常在マクロファージの HIV-1 感染後の動態 (どちらがより強く潜伏感染するかを含め) を明らかにする

- (1) 胃がんなどの進行がんの患者腹水から、2 種類の組織常在マクロファージをソーティング純化する。CD45⁺CD14⁺の集団をさらに CCR2 と HLA-DR で展開することで、CCR2 が高く HLA-DR がやや低い集団を単球由来、CCR2 が低く HLA-DR がやや高い集団を胎児期由来マクロファージとして純化できる。旧来の単球を分化誘導したマクロファージも対照として加え、これらに臨床分離株を含む HIV-1 を感染させ、その後のウイルス動態を比較する (ゲノム qPCR、ウイルス mRNA qRT-PCR、ウイルス抗原 ELISA/FACS など)。どのマクロファージがプロウイルスを保持したまま長期生存するかも FACS などで調べる。シングルセルレベルの解析も含め、感染者に近い状況を再現するため、抗 HIV-1 薬を添加した群も解析する。
- (2) 上記の感染実験において、ウイルス学的解析と同時に、2 種類のヒト組織マクロファージの HIV-1 に関連した表現型の解析も行う (HIV-1 受容体や宿主因子の発現の FACS や qRT-PCR による定量など)。旧来の単球を分化誘導したマクロファージも対照として加える。

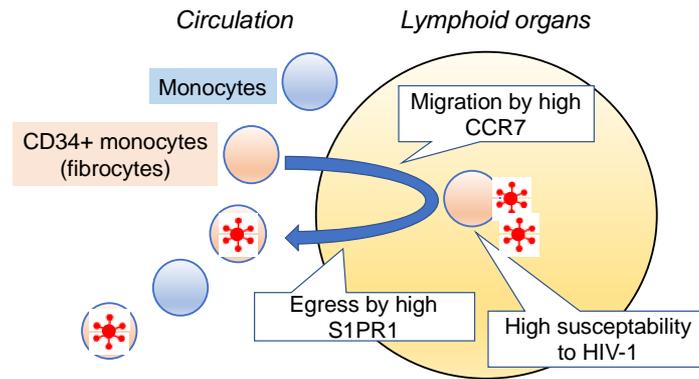
4. 研究成果

Fibrocytes 関連の成果

これまでの解析から新たな HIV-1 潜伏感染細胞として末梢血中の fibrocytes、厳密には末梢単球中の CD34 陽性集団 (CD45⁺CD3⁻CD14⁺CD34⁺) を同定してきたが、3 年以上の長期に渡って抗レトロウイルス療法 (ART) を行い、長い間、血中ウイルス量が検出限界以下になった感染者において、なぜ末梢血中の fibrocytes に HIV-1 ウイルスゲノムが存在し得るのかは全く不明であった。この 3 年間の基盤研究 B を通して、この根源的な疑問に一定の答えを出せたことから、以下、この点を中心に成果を記載する。

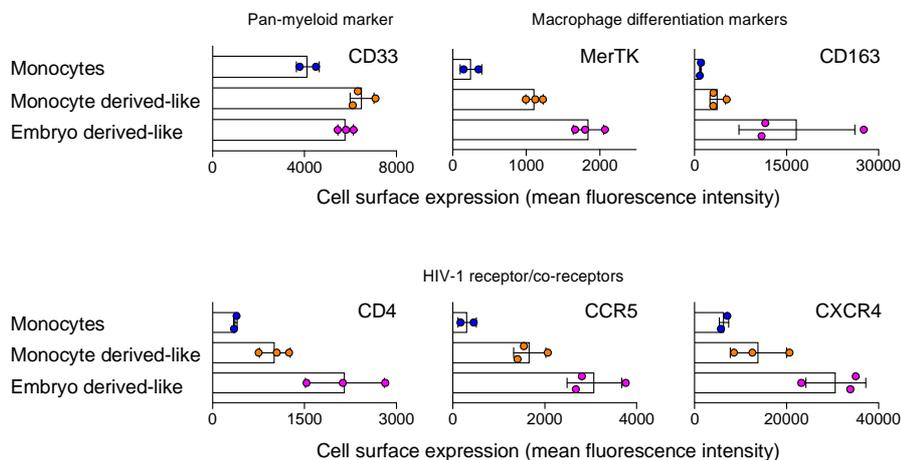
長期治療中の感染者では血中にウイルスは検出されないが、薬剤が到達しにくい組織内に残存すると考えられている。そしてリンパ節はその代表的な組織の一つと予想されている。そこで

熊本大学歯科口腔外科と共同研究を行い、口腔がん患者から治療目的で切除したリンパ節の解析を行った。その結果、fibrocytes が末梢だけでなくリンパ節にも存在することを確認できた。末梢では全単球の数%以下であるが、リンパ節では10%程度と多く、そしてHIV-1のレセプター（CD4 および CCR5）を高発現するという性質は、どちらの fibrocytes でも認められた。私達は以前に末梢 fibrocytes に高発現するマーカーの一つとしてSLAMF7を報告してきたが（J Immunol 2015; Blood 2019）、それはリンパ節の fibrocytes でも認められた。さらに、これら同一と考えられる集団は、細胞がリンパ節などに入る際に重要な役割を果たす分子 CCR7 並びに細胞がリンパ節などから出る際に重要な役割を果たす分子 sphingosine-1-phosphate receptor 1 (S1PR1)を高発現することを新たに見出した。つまり、fibrocytes は末梢からリンパ節などの組織に移行しやすく、かつ再び末梢に循環する特性を有すると予想される。以上から、fibrocytes が、その高い HIV-1 感受性と、末梢と組織を循環しやすい特性のため、ART 下においてもリンパ節などに残存する HIV-1 に感染する、と言う新たな可能性を見出した（以下の模式図を参照）。これらの発見は今後、HIV-1 潜伏感染細胞の完全排除に向けて、有用かつ重要な情報と期待される。



組織常在マクロファージ関連の成果

胃がんなどの進行がん患者より苦痛緩和目的で採取された腹水を用いて組織マクロファージの特性を解析し、胎生期由来と推定されるマクロファージが HIV-1 に高度感受性である、新たな可能性を見出した。まず CD45⁺CD14⁺のマクロファージが、表面抗原 CCR2 と HLA-DR の発現でさらに2つの集団に分けられた。これまでの内外の報告から、CCR2^{High}HLA-DR^{Low} が単球あるいは胎児肝由来、CCR2^{Low}HLA-DR^{High} が胎生期由来と推定される。実際、CCR2^{Low}HLA-DR^{High}の方がマクロファージマーカー MerTK および CD163 を高発現しており、これは組織に長く常在するからと考えられた。RNA-seq の解析から細胞増殖マーカー Ki67 の発現も高く、増殖能が高いこと、つまり胎生期由来であるという考えと一致した。マウスの系ではあるが、骨髄、胎児肝および卵黄嚢からマクロファージを分離して培養すると、卵黄嚢由来が最も高い増殖能を有することを確認している。そして、このヒト胎生期由来 CCR2^{Low}HLA-DR^{High} マクロファージが HIV-1 のレセプター（CD4 および CCR5）を高発現することも見出した（下図を参照）。以上から、胎生期に出現したマクロファージは、その長期増殖能のため成人してもなお組織に常在し、そしてそれらは HIV-1 に感染しやすいと予想される。感染細胞が増殖するか否かはウイルスとの相互作用や伝播に大きく影響する。実際、私達は増殖能を有する、iPS 細胞由来マクロファージに HIV-1 を感染させると非常に長期にウイルス産生が見られることを確認している。従って、組織マクロファージの中では、胎生期由来の集団が主要な HIV-1 潜伏感染細胞になっている可能性が強く示唆される。前述の単球の解析と合わせ、ミエロイド系の細胞に関する一連の発見は今後、HIV-1 潜伏感染細胞の完全排除に向けて、有用かつ重要な情報と期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Eltalkhaw Youssef M, Takahashi Naofumi, Ariumi Yasuo, Shimizu Jun, Miyazaki Kazuo, Senju Satoru, Suzu Shinya	4. 巻 Mar 15
2. 論文標題 iPS cell-derived model to study the interaction between tissue macrophage and HIV-1	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Leukocyte Biology	6. 最初と最後の頁 qiad024
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jleuko/qiad024	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 Nasser Hesham, Takahashi Naofumi, Eltalkhaw Youssef M., Reda Omnia, Lotfi Sameh, Nasu Kanako, Sakuragi Jun-ichi, Suzu Shinya	4. 巻 209
2. 論文標題 Inhibitory and Stimulatory Effects of IL-32 on HIV-1 Infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 970～978
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.2200087	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 Hiyoshi M, Takahashi N, Eltalkhaw YM, Noyori O, Lotfi S, Panaampon J, Okada S, Tanaka Y, Ueno T, Fujisawa JI, Sato Y, Suzuki T, Hasegawa H, Tokunaga M, Satou Y, Yasunaga JI, Matsuoka M, Utsunomiya A, Suzu S	4. 巻 17
2. 論文標題 M-Sec induced by HTLV-1 mediates an efficient viral transmission	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS Pathog	6. 最初と最後の頁 e1010126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.ppat.1010126	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 Irie T, Yoshii D, Komohara Y, Fujiwara Y, Kadohisa M, Honda M, Suzu S, Matsuura T, Kohashi K, Oda Y, Hibi T	4. 巻 11
2. 論文標題 IL-34 in hepatoblastoma cells potentially promote tumor progression via autocrine and paracrine mechanisms	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Med	6. 最初と最後の頁 1441-1453
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.4537	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 Nasser Hesham, Adhikary Partho, Abdel-Daim Amira, Noyori Osamu, Panaampon Jutatip, Kariya Ryusho, Okada Seiji, Ma Wenjuan, Baba Masaya, Takizawa Hitoshi, Yamane Mariko, Niwa Hitoshi, Suzu Shinya	4. 巻 6
2. 論文標題 Establishment of bone marrow-derived M-CSF receptor-dependent self-renewing macrophages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Death Discovery	6. 最初と最後の頁 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41420-020-00300-3	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 -

1. 著者名 Lotfi Sameh, Nasser Hesham, Noyori Osamu, Hiyoshi Masateru, Takeuchi Hiroaki, Koyanagi Yoshio, Suzu Shinya	4. 巻 17
2. 論文標題 M-Sec facilitates intercellular transmission of HIV-1 through multiple mechanisms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Retrovirology	6. 最初と最後の頁 20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12977-020-00528-y	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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 鈴 伸也, Youssef Eltalkhawy, 高橋尚史
2. 発表標題 CD34陽性単球におけるHIV-1感染
3. 学会等名 日本エイズ学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Youssef M. Eltalkhawy, Naofumi Takahashi, Yasuo Ariumi, Jun Shimizu, Kazuo Miyazaki, Satoru Senju, Shinya Suzu
2. 発表標題 iPS cell-derived model to study the interaction between tissue macrophage and HIV-1
3. 学会等名 日本エイズ学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Youssef M. Eltalkhawy, Naofumi Takahashi, Shinya Suzu
2. 発表標題 iPS-derived myeloid line (iPS-ML) as a model to study HIV-1 infection in macrophages
3. 学会等名 日本エイズ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinya Suzu, Hesham Nasser, Youssef M. Eltalkhawy, Hiroshi Niwa, Takatsugu Ishimoto, and Naofumi Takahashi
2. 発表標題 Self-renewing macrophages: how they can proliferate, whether they exist in humans, and how they are involved in HIV-1 infection
3. 学会等名 Kumamoto AIDS Seminar (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hesham Nasser, Partho Adhikary, Amira Abdel-Daim, Osamu Noyori, Hitoshi Takizawa, Ryusho Kariya, Seiji Okada, Shinya Suzu
2. 発表標題 Bone marrow-derived macrophages with un-limited self-renewing capacity
3. 学会等名 第82回日本血液学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hesham Nasser, Partho Adhikary, Amira Abdel-Daim, Osamu Noyori, Jutatip Panaampon, Ryusho Kariya, Seiji Okada, Wenjuan Ma, Masaya Baba, Hitoshi Takizawa, Mariko Yamane, Hitoshi Niwa, Shinya Suzu
2. 発表標題 M-CSF-dependent physiological self-renewing macrophages are derived from adult mouse bone marrow
3. 学会等名 21st Kumamoto AIDS Seminar (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mohammed Youssef Eltalkhawy, Hesham Nasser, Shinya Suzu
2. 発表標題 Induced Pluripotent cells Differentiated into Macrophages (iPS-ML) as model to study HIV-1 infection in different types of Macrophages
3. 学会等名 21st Kumamoto AIDS Seminar (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sameh Lotfi, Hesham Nasser, Osamu Noyori, Masateru Hiyoshi, Hiroaki Takeuchi, Yoshio Koyanagi, Shinya Suzu
2. 発表標題 M-Sec accelerates cell to cell transmission of HIV-1 through multiple mechanisms
3. 学会等名 21st Kumamoto AIDS Seminar (国際学会)
4. 発表年 2020年

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

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