

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03509

研究課題名(和文)共焦点りん光寿命顕微鏡を用いた生体組織の酸素化状態のライブイメージング

研究課題名(英文)Oxygen imaging of living tissues using confocal phosphorescence lifetime imaging microscope

研究代表者

飛田 成史(Tobita, Seiji)

群馬大学・大学院理工学府・教授

研究者番号：30164007

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：イリジウム(III)錯体は、溶液中において酸素によって顕著に消光されるりん光を示す。本研究では、この酸素によるりん光消光現象を利用して、イリジウム(III)錯体に基づく新しい生体内酸素プローブを設計・合成した。このプローブと共焦点顕微りん光寿命イメージング(PLIM)装置を用いることにより、マウスなどの小動物の臓器や腫瘍の組織内の酸素濃度分布を小動物が生きた状態で高分解能イメージングできる技術を開発することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内において酸素は、細胞の分化や増殖、代謝さらに細胞間情報伝達など様々な生命活動に関与している。組織中の酸素濃度は、血流の安定や恒常性の機序によって維持されているが、組織内の酸素濃度の変化は、様々な病気の発症や増悪・進行に関わっていると考えられ、組織中の酸素濃度を高分解能でライブイメージングする技術の確立は、医学の進展特に生理学や病理学あるいは病気の発症機序の解明、新しい治療法の確立などに大きく貢献すると期待される。

研究成果の概要(英文)：Iridium(III) complexes exhibit oxygen-dependent phosphorescence in solution. In this study we designed and synthesized new intravital oxygen probes based on the phosphorescence quenching of Ir(III) complexes by molecular oxygen. By using these oxygen probes and a confocal phosphorescence lifetime imaging microscope, we succeeded in developing an oxygen imaging technique that can be applied to elucidation of the oxygen status of organ and tumor tissues in vivo.

研究分野：光化学、光生命科学

キーワード：酸素プローブ 低酸素 イリジウム錯体 りん光 光イメージング

1. 研究開始当初の背景

生体内において酸素は、細胞の分化や増殖、代謝さらに細胞間情報伝達など様々な生命活動に関与している。組織中の酸素濃度は、血流の安定や恒常性の機序によって維持されているが、多くの病的要因によって変化が起こることが知られている。組織内の酸素濃度の変化は、様々な病気の発症や増悪・進行に関わっていると考えられ、組織中の酸素濃度を高分解能でライブイメージングする技術の確立は、医学の進展特に生理学や病理学さらに低酸素が関係する病気の発症機序の解明、新しい治療法の確立などに大きく貢献すると期待される。しかし、従来の酸素電極を用いた酸素濃度測定法、**Bold MRI**、**EPR oximetry** などの酸素測定法では、細胞レベルの分解能で組織内の酸素イメージングを行うことは難しい。一方、分子の発するりん光が酸素分子との衝突によって消光するいわゆる「りん光消光」を利用した酸素濃度測定法は、顕微鏡と組み合わせることにより、組織中の細胞や毛細血管を描出しながら酸素濃度分布を求めることが可能となる。しかし、この光イメージング技術を確認するには、**in vivo** で組織の細胞内あるいは血中で働く適切な発光プローブと、りん光寿命をイメージングする装置の開発、さらにりん光寿命から酸素濃度を定量するための **calibration** 法の検討が必要である。

2. 研究の目的

本研究は、我々が新たに開発した脂溶性および水溶性イリジウム錯体を酸素プローブとしてりん光寿命イメージング顕微分光 (**PLIM; phosphorescence lifetime imaging microscopy**) 装置を用いることにより、マウスの腎臓、肝臓などの臓器組織の酸素化状態を高分解能でライブイメージングする技術を開発し、酸素生物学・低酸素関連医学の研究に資することを目的とする。バイオイメージング技術は、“これまで目で見えなかった様々な生命現象を細胞や動物が生きた状態で可視化できる技術”として、益々、その重要性が増している。この技術の要となるのは、目的に合った発光プローブの設計・開発とその特性を最大限に生かせる検出装置の最適化である。本研究では、酸素による顕著なりん光消光を示す脂溶性 **Ir(III)**錯体を細胞内プローブ、水溶性 **Ir(III)**錯体を血中プローブとして用いて、組織内の酸素化状態をこれまでにない空間分解能でイメージングする技術を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

細胞内プローブとして脂溶性 **Ir(III)**錯体 **BTPDM1**、血中プローブとして水溶性 **Ir(III)**錯体 **BTP-PEG₄₈**を用いた。まず、**BTPDM1**については培養細胞を用いて、**BTP-PEG₄₈**についてはマウスから採取した血液を溶媒としてりん光寿命と酸素分圧の関係を明らかにした。次に麻酔を施したマウスの尾静脈からこれらのプローブを投与し、開腹後、腎臓、肝臓、がん組織の酸素化状態のライブイメージングを行った。測定には本研究室で構築した **FLIM/PLIM** 装置 (図1) を用いた。本装置は、倒立顕微鏡と共焦点蛍光・りん光寿命測定システムから構成され、ピコ秒ダイオードレーザー (波長:488 nm, 繰り返し:50 MHz) を励起光として用いることにより、蛍光寿命 (**FLIM**) 画像とりん光寿命 (**PLIM**) 画像を同時に取得することができる。各ピクセルのりん光寿命をあらかじめ求めておいた寿命と酸素分圧の関係式から酸素分圧に変換し、酸素イメージング画像を得た。

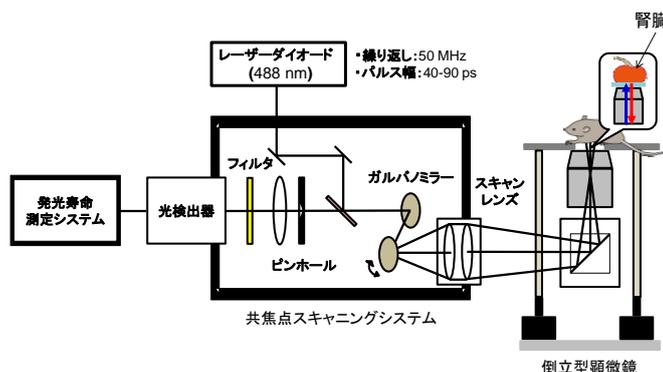


図1 りん光寿命イメージング顕微鏡装置

4. 研究成果

(1) 腎臓の酸素化状態のイメージング[1]

麻酔下のマウスに酸素プローブ **BTPDM1** と血管内皮染色試薬 **FITC lectin** を尾静脈投与し、開腹して腎臓を露出させ、図1の装置を用いて腎臓表層にピコ秒レーザー光を照射して **FLIM/PLIM** 画像を測定した。図2に得られた **FLIM/PLIM** 画像を示す。図2の顕微寿命画像は、腎表層から約 **10 μm** 内部の画像である。(a)は **BTPDM1** のりん光寿命画像で、りん光寿命の長さは下に示すスケールの疑似カラーで表示されている。(b)は **FITC lectin** の蛍光画像、(c)は(a)と(b)を重ねたマージ画像である。(a)の **BTPDM1** のりん光寿命画像と(b)の毛細血管画像から、**BTPDM1** は血中から近位尿細管細胞内に移行し、細胞内の主にライソソームに集積していることが分かった。**HK-2** (ヒト腎近位尿細管) 細胞を使って、**BTPDM1** のりん光寿命と酸素分圧の関係を求め

た結果に基づいて、(a)のりん光寿命画像から尿細管細胞の酸素分圧を算出したところ、糸球体に近いS1セグメントでは平均酸素分圧が49 mmHg、離れたS2セグメントでは41 mmHgとなり、セグメント間で酸素濃度勾配があることが明らかになった。また、マウスに空気に代わって窒素と酸素の混合ガス(21-15%)を吸入させたところ、酸素分圧に依存してPLIM画像から得られた腎臓組織の酸素分圧も変化を確認することができた。

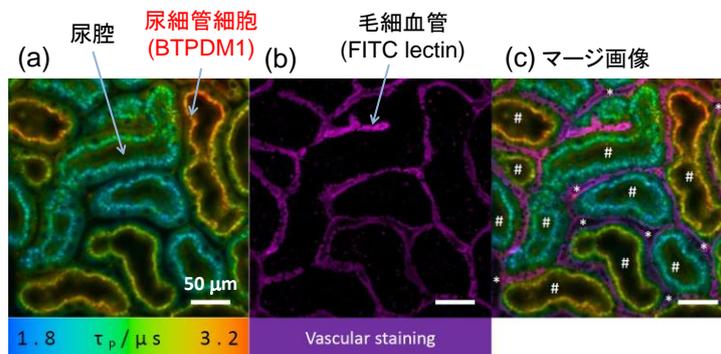


図2 腎臓組織のFLIM/PLIM画像

(2) 肝臓の酸素化状態のイメージング[2]

肝小葉内の肝細胞の代謝機能は均一ではなく、metabolic zonation と呼ばれる領域特異性をもっている。metabolic zonation には、小葉内での酸素濃度勾配が関係しており、その破綻は肝硬変、肝炎、薬剤性やアルコール性の肝疾患のみならず肥満症、糖尿病といった代謝性疾患の発症につながると考えられている。そこで、肝細胞の酸素濃度勾配を解明するため、マウスの肝臓組織の酸素濃度イメージング実験を行った。

マウスにBTPDM1を投与し、開腹後、肝臓を露出させ、肝臓のPLIM画像を測定した(図3)。これらは、対物レンズの倍率を10倍、20倍、40倍にして異なる倍率で測定した結果である。寿命が長い領域、すなわち酸素分圧の低い領域は中心静脈(CV)と考えられる。

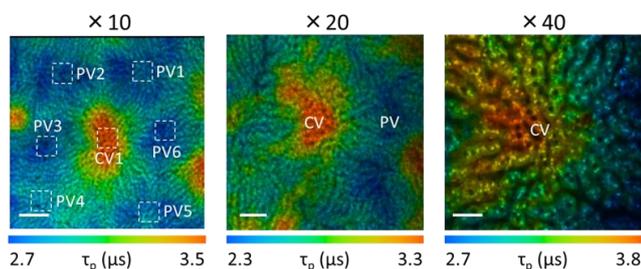


図3 異なる倍率で測定した肝臓組織のPLIM画像

一方、その周辺の寿命がより短い領域、すなわち酸素濃度の高い領域は門脈(PV)に帰属することができる。AML12 (alpha mouse liver 12) 細胞を使って、寿命と酸素分圧の関係を求めた結果に基づいて、PLIM画像から破線枠内の肝小葉の酸素分圧を算出したところ、CV付近の平均酸素分圧は 24 ± 6.1 mmHg、PV付近の平均酸素分圧は 39 ± 4.2 mmHgとなり、肝小葉内の酸素濃度勾配をマウスが生きた状態でイメージングすることができた。また、血中へ塩化アンモニウムを投与したところ、肝臓組織内が低酸素状態に陥り再び元のレベルに回復する変化が見られ、解毒代謝に伴う組織の酸素化状態の変化を検出できることも明らかになった。

(3) 腫瘍の酸素化状態のイメージング

一般に、腫瘍組織はがん細胞の急速な増殖により血管新生が追い付かず、低酸素状態に陥っていることが、ピモニダゾール等の低酸素マーカーを組織切片に適用した実験で明らかにされている。また、キャピラリー酸素電極を腫瘍組織に挿入した実験からも、腫瘍が正常組織に比べて低酸素であることが報告されている。しかし、血流が通っているin vivoの状態では腫瘍組織の酸素化状態を高分解能イメージングした報告はほとんど知られていない。そこで、HCT-116細胞をヌードマウスの皮下に移植して2週間飼育することによって担がんマウスを作成した。このマウスにBTPDM1を静脈投与してから腫瘍部を露出し、励起光を照射してPLIM画像を測定した。その結果、血管からの距離が増すにつれ、腫瘍細胞内に取り込まれたBTPDM1のりん光寿命が増加していることが分かった。これは、腫瘍組織では血管構造が脆弱になり、血管から離れた細胞への酸素供給が滞っていることを示し、血流が通っている状態で腫瘍組織の酸素化状態を高分解能でイメージングすることができた。さらに、水溶性Ir(III)錯体BTP-PEG₄₈を酸素プローブとして用いることにより、腫瘍組織の不規則な血管網と局所的な低酸素状態の存在を明らかにすることができた。

<引用文献>

- [1] Y. Hirakawa, K. Mizukami, T. Yoshihara, I. Takahashi, P. Khulan, T. Honda, I. Mimura, T. Tanaka, S. Tobita, M. Nangaku, *Kidney Int*, **2018**, 93, 1483-1489.
- [2] K. Mizukami, A. Katano, S. Shiozaki, T. Yoshihara, N. Goda and S. Tobita, *Sci. Rep.*, **2020**, 10, 21053.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 T. Yoshihara, R. Maruyama, S. Shiozaki, K. Yamamoto, S. Kato, Y. Nakamura, S. Tobita	4. 巻 92
2. 論文標題 Visualization of lipid droplets in living cells and fatty livers of mice based on the fluorescence of pi-extended coumarin using fluorescence lifetime imaging microscopy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anal. Chem.	6. 最初と最後の頁 4996-5003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b05184	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 R. Hoshi, K. Suzuki, N. Hasebe, T. Yoshihara and S. Tobita	4. 巻 92
2. 論文標題 Absolute quantum yield measurements of near-infrared emission with correction for solvent absorption	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anal. Chem.	6. 最初と最後の頁 607-611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b03297	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 M. Yasukagawa, K. Yamada, S. Tobita and T. Yoshihara	4. 巻 383
2. 論文標題 Ratiometric oxygen probes with a cell-penetrating peptide for imaging oxygen levels in living cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Photochem. Photobiol. A: Chem.	6. 最初と最後の頁 111983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2019.111983	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 Hirakawa Yosuke, Mizukami Kiichi, Yoshihara Toshitada, Takahashi Ippei, Khulan Purevsuren, Honda Tomoko, Mimura Imari, Tanaka Tetsuhiro, Tobita Seiji, Nangaku Masaomi	4. 巻 93
2. 論文標題 Intravital phosphorescence lifetime imaging of the renal cortex accurately measures renal hypoxia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 1483 ~ 1489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2018.01.015	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 Akiyama H., Takahashi I., Shimoda Y., Mukai R., Yoshihara T., Tobita S.	4. 巻 17
2. 論文標題 Ir(III) complex-based oxygen imaging of living cells and ocular fundus with a gated ICCD camera	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Photochemical & Photobiological Sciences	6. 最初と最後の頁 846 ~ 853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8pp00122g	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 Toshitada Yoshihara, Yosuke Hirakawa, Masaomi Nangaku, Seiji Tobita	4. 巻 11
2. 論文標題 Quenched-phosphorescence Detection of Molecular Oxygen	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Detection Science	6. 最初と最後の頁 71 ~ 90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/9781788013451	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 Ieda Naoya, Oka Yumina, Yoshihara Toshitada, Tobita Seiji, Sasamori Takahiro, Kawaguchi Mitsuyasu, Nakagawa Hidehiko	4. 巻 9:1430
2. 論文標題 Structure-efficiency relationship of photoinduced electron transfer-triggered nitric oxide releasers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-38252-5	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27件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 M. Yasukagawa, S. Tobita and T. Yoshihara
2. 発表標題 Development of Ratiometric Oxygen Probes Based on Green Fluorophore and Red Phosphor for Visualization of Intracellular Oxygen Level
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Bioimaging (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井芳樹, 塩崎秀一, 田村拓人, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 水溶性イリジウム錯体とりん光寿命イメージング顕微鏡を用いた眼底血管の酸素濃度計測
3. 学会等名 令和元年度日本化学会関東支部群馬地区研究交流発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上輝市, 片野彩花, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 イリジウム錯体を用いた生体組織 内微小環境の酸素イメージング
3. 学会等名 第17回がんとハイポキシア研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Purevsuren Khulan, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 Ir(III)錯体および共焦点りん光寿命イメージング法を用いた脂肪肝の酸素イメージング
3. 学会等名 第17回がんとハイポキシア研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 広瀬達也, 吉原利忠, 水上輝市, 片野彩花, 塩崎秀一, 飛田成史
2. 発表標題 クマリン誘導体を配位子に有するIr()錯体の開発と生体内酸素プローブへの応用
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川卓視, 齋藤正貴, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 白金錯体の光物理特性および生体内酸素プローブへの応用
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋祐紀, 吉原利忠, 塩崎秀一, 松村菜生, 飛田成史
2. 発表標題 クマリン類を配位子に有するイリジウム錯体を用いた高輝度水溶性酸素プローブの開発
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木唯花, 丸山凌, 片野彩花, 飛田成史, 吉原利忠
2. 発表標題 蛍光性分子ローターおよび蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた細胞・組織内のマイクロ粘度測定
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上輝市, 片野彩花, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 りん光寿命計測に基づく生体組織の高分解能酸素イメージング
3. 学会等名 第7回低酸素研究会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片野彩花, 水上輝市, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光イメージング顕微鏡を用いた肝臓組織の高 分解能酸素イメージング
3. 学会等名 第7回低酸素研究会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉原利忠, 綿貫千優, 水上輝市, 飛田成史
2. 発表標題 水溶性イリジウム錯体の開発および血中酸素イメージング, 第41回日本光医学・光生物学会
3. 学会等名 第41回日本光医学・光生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Mizukami, T. Yoshihara and S. Tobita
2. 発表標題 High-Resolution Oxygen Imaging of Cell Spheroid and Living Tissues Using Phosphorescence Lifetime Imaging Microscopy
3. 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M. Yasukagawa, T. Yoshihara and S. Tobita
2. 発表標題 Development of Ratiometric Oxygen Probes with Cell-Penetrating Peptide for Intracellular Oxygen Imaging
3. 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Muzukami, N. Matsumura, S. Yuasa, T. Yoshihara and S. Tobita
2. 発表標題 High-Resolution imaging of Oxygen Status of Mouse Kidney by Phosphorescence Lifetime Imaging Microscopy
3. 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Yoshihara, S. Sato, N. Matsumura, S. Shiozaki and S. Tobita
2. 発表標題 Green-Emitting Iridium(III) Complexes with Phenylpyridine Ligands for Oxygen Sensing in Living Cells
3. 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉原利忠, 水上輝市, 平川陽亮, 南学正臣, 飛田成史
2. 発表標題 水溶性イリジウム錯体(III)を用いた腎臓の血中酸素イメージング
3. 学会等名 日本化学会第99回春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安カ川真美, 吉原利忠, 山田圭一, 飛田成史
2. 発表標題 細胞内酸素レベル計測を目指した緑色蛍光・赤色りん光レシオ酸素プローブの開発
3. 学会等名 日本化学会第99回春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上輝市, 片野彩花, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 りん光寿命計測に基づく細胞スフェロイドと肝臓の高分解能酸素イメージング
3. 学会等名 第16回がんとハイポキシア研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村拓人, 吉原利忠, 水上輝市, 塩崎秀一, 六代範, 西山正彦, 飛田成史
2. 発表標題 5. 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡(PLIM)を用いた腫瘍組織のin vivo酸素イメージング
3. 学会等名 第16回がんとハイポキシア研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mami Yasukagawa, Toshitada Yoshihara and Seiji Tobita
2. 発表標題 Development of Ratiometric Oxygen Probes with Cell Penetrating Peptide and Measurement of Intracellular Oxygen Levels
3. 学会等名 2018年光化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星亮輔, 鈴木健吾, 吉原利忠, 水上輝市, 飛田成史
2. 発表標題 積分球を用いた近赤外絶対発光量子収率測定
3. 学会等名 2018年光化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野晃貴, 吉原利忠, 水上輝市, 飛田成史
2. 発表標題 マルチカラー酸素イメージングを目指したカチオン性イリジウム錯体の開発
3. 学会等名 2018年光化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平川陽亮, 南学正臣, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた組織内酸素分圧計測, 吉原利忠, 塩崎秀一
3. 学会等名 第13回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水上輝市, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 PLIM法による細胞スフェロイドの酸素化状態のリアルタイムイメージング
3. 学会等名 第13回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片野彩花, 水上輝市, 塩崎秀一, 松村菜生, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた肝臓内酸素化状態の高分解能イメージング
3. 学会等名 第13回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松村菜生, 塩崎秀一, 水上輝市, 齋藤正貴, 片野彩花, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 ポリエチレングリコールを配位子に有する水溶性Ir錯体を用いた脾臓の血中酸素濃度測定
3. 学会等名 第13回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村拓人, 吉原利忠, 水上輝市, 塩崎秀一, 片野彩花, 松村菜生, 六代 範, 西山正彦, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた腫瘍の酸素化状態の高分解能イメージング
3. 学会等名 第13回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 細胞および組織内酸素濃度測定試薬	発明者 吉原利忠、広瀬達也、飛田成史	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-153754	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 細胞および組織内脂質滴の蛍光イメージング試薬	発明者 吉原利忠、丸山凌、飛田成史	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/12002	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究分担者	平川 陽亮 (Hirakawa Yosuke) (10780736)	東京大学・医学部附属病院・助教 (12601)	

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