

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32307

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05530

研究課題名(和文) 大腸における海産物由来硫酸化多糖類からの活性硫黄分子種の産生評価

研究課題名(英文) Evaluation of Reactive sulfur species (RSS) production from marine sulfated polysaccharides in intestine.

研究代表者

時田 佳治 (TOKITA, Yoshiharu)

群馬医療福祉大学・医療技術学部・准教授

研究者番号：70588003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：フコイダンやモズクを事前に長期間摂取することで、消化管での吸収を意味する尿中フコイダンの濃度が高くなることが確認された。このことから食習慣が消化管内でのフコイダンの分解や吸収に影響を与える可能性が示唆された。しかし、糞便中のフコイダンの分子量変化を確認したところ、糞便中でのフコイダンの分子量変化がみられなかったことからフコイダンの分解は限定的であることが確認された。先行研究によれば、同じ硫酸化多糖であるコンドロイチン硫酸は消化管内の硫化水素産生を亢進することが報告されているが、フコイダンやモズクを長期摂取したフコイダン分解が亢進していると考えられる群ではむしろ硫化水素が減少する傾向がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の結果から、海産物由来硫酸化多糖の一種であるフコイダンは、その多くが分解されずに体外に排出されるものの、フコイダンもしくはフコイダンを多く含むモズクを長期摂取することで吸収が促進される可能性が示唆された。このことは、食習慣が体内動態に影響を与えることを示しており、今後の健康食品の効果を検証するうえで重要な知見となりうる。また、フコイダンは長期摂取では硫化水素産生を減少させることを示唆する結果を得た。フコイダンの摂取によってメタボリックシンドロームを減らせることが動物実験で明らかになっていることから、このことは硫化水素の生体内における役割の解明に資するものになるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized fucoidan, one of the marine sulfated polysaccharides, will be able to be fermented by intestinal bacterial flora and produce a reactive sulfur species in intestine. To investigate our hypothesis, we established the quantification method for mice's urinary and fecal fucoidan concentration used by ELISA and for fecal hydrogen sulfide, and determined the kinetics of fucoidan, including fecal and urinary concentration, and molecular weight of fucoidan in urine and stools after oral administration of fucoidan to three groups, 1) fucoidan group, 2) mozuku group, and 3) vehicle group, for two weeks. These results suggest that dietary pattern of fucoidan or mozuku intake may have an effect on metabolism and absorption of fucoidan in intestine and production of hydrogen sulfide in stool. Although it is reported that chondroitin sulfate enhanced hydrogen sulfide production in intestine, dietary pattern of fucoidan attenuated the production of hydrogen sulfide.

研究分野：臨床化学

キーワード：海産物 硫酸化多糖 フコイダン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海産物硫酸化多糖は海藻などの細胞外マトリックスにヘミセルロース様多糖として存在している。海産物由来硫酸化多糖としては、紅藻類に含まれるポルフィランやカラギーナンや褐藻類に含まれるフコイダンなどがあげられる。特にフコイダンはポリフコースを主鎖とし高度に硫酸化された多糖であるが、免疫賦活作用や抗ウイルス作用や抗メタボリックシンドローム作用といった様々な生理活性が報告されており健康食品として市販されているが、その作用機序は明らかになっていない。フコイダンの体内動態並びに消化管分解能については研究代表者を含む多くの研究者が消化管では分解されず、消化管からはほとんど吸収されないとしている (Tokita *et al.* Biosci Biotechnol Biochem. 2010, Nagamine *et al.* Marine Drug. 2014)。近年では、海産物由来硫酸化多糖の作用機序として、腸内細菌叢の変化とそれらの腸内細菌による発酵産物によるものであることが示唆されている (Shang *et al.* Carbohydr Polym. 2017)。フコイダンについても *in vitro* で腸内細菌による短鎖脂肪酸産生を増加させることが報告されているが (Shang *et al.* Diabetes. 2017) 未だにフコイダンの作用機序を解明するに至っていない。短鎖脂肪酸以外の腸内細菌の発酵産物として脱硫酸化酵素や硫酸還元酵素の作用により生成される硫化水素が挙げられるが、近年ではこの硫化水素から生成される活性硫黄分子種が新たな生理活性メディエーターとして注目されている。この活性硫黄分子種は分子内に硫黄に共有結合しているサルフェン硫黄を持つことから硫化水素とは異なる作用を持ち、血管拡張、細胞保護作用、インスリン分泌、神経伝達調節、エネルギー代謝亢進など様々な生理活性を示し、その生理活性に関する研究は今も精力的に進められている (Ida. *et al.* PNAS, 2014)。活性硫黄分子種の中には消化管を透過しうるものもあり (Nava. *et al.* J Am Chem Soc., 2016) 消化管内で産生された活性硫黄分子種は生体の生理機能に影響を与える可能性がある。

海産物多糖の分解としては、紅藻類を摂取しているヒトの腸内細菌がポルフィラン分解酵素であるポルフィラナーゼといった CAzyme 遺伝子を獲得し、多糖の存在下で酵素が誘導され、分解されることが明らかとなった (Hehemann. *et al.* Nature. 2010)。フコイダンは海中に存在するフコイダン資化性菌によって脱硫酸されるが、このことは普段のフコイダンの摂取習慣が脱硫酸に影響している可能性をしめし、効果の個人差の原因となるかもしれない。

2. 研究の目的

種々の健康効果が謳われている海産物由来硫酸化多糖の健康効果の責任分子として腸内細菌による硫酸化多糖の発酵によって産生される活性硫黄分子種であるかを検証する目的で、腸内細菌によってフコイダンから産生される活性硫黄分子種を測定し、その産生機構を明らかにするための評価系を確立する。また、海産物由来硫酸化多糖の健康効果の食習慣との関連について明らかにする。

海産物由来硫酸化多糖の示す健康効果の作用機序は未だに不明な部分が多い。研究代表者の研究成果から、海産物由来硫酸化多糖のひとつであるフコイダンはほとんど吸収されずに効果を示すことから、研究代表者は消化管内での腸内細菌の発酵産物が責任分子となると考えている。これまで多糖の生理活性は腸内細菌の発酵産物である短鎖脂肪酸が注目されているが、研究代表者はこの発酵産物として短鎖脂肪酸に代わって腸内細菌の発酵によって生成する活性硫黄分子種に注目している点で他の研究と異なる。このフコイダンでの成果を、海産物や動物由来の他の硫酸化多糖の作用機序を解明するうえでの基盤とする。

3. 研究の方法

フコイダン特異的 ELISA によるフコイダンの定量

アフィニティー精製抗フコイダン抗体を固相化したプレートに、0~60 ng/ml の標準物質と被検試料を加えたのちにビオチン標識抗フコイダン抗体ならびにアビジン-HRP を反応させる。その後、o フェニレンジアミンで発色させ 490 nm の吸光度を測定した。

糞便中フコイダンの測定

糞便に PBS を加えてホモジナイズをした。ホモジナイズ後のサンプル 100 μ l にフコイダン標準試料 1.0mg/ml を 10 μ l 添加し、10 倍希釈をした。その後、遠心分離 (12,000rpm・室温・5 分間) し、上清をフコイダン特異的 ELISA を用いて分析した。サンプルは、10 倍から 1280 倍まで倍々希釈をした。糞便試料の測定法のヴァリデーションとして inter-, intra- assay variation や添加回収試験を実施した。

尿添加回収

マウスプール尿を PBS で 10 倍希釈し、フコイダン特異的 ELISA にて分析をした。なお、マウス購入後、フコイダンまたはモズク含有餌投与前に回収した尿をプール尿として用い、ヴァリデーションには糞便測定と同様に行った。

糞便中硫化水素測定

硫化水素測定はメチレンブルー法を用いた。標準物質として硫化ナトリウム水溶液を用いたが、標準物質または糞便試料と酢酸亜鉛とを混和した。この溶液に 20mM DPDA 含有 7.2M 塩酸および 30mM 硫化鉄 () 含有 1.2M 塩酸を混和し室温で 30 分静置後、波長 670nm で吸光度を測定

した。糞便の前処理としては糞便 100mg あたり 400 μ l の脱気蒸留水を加えホモジナイズし、1mM 硫化ナトリウム 100 μ l と 4 倍量の 12%(w/v)酢酸亜鉛を加えた。先行研究では、そのまま MB 反応をさせ吸光度測定の前直前に遠心分離 (12,000rpm・10 分・室温) し上清を回収し吸光度を測定するとされている (Alessandra et al. Analytica Chimica Acta 2017)。ここでは、前処理法の検討のために先行研究と同じプロトコルで調製したサンプルと反応の前に遠心分離して回収した上清を用いて MB 反応を行った場合を比較した。

実験動物の飼育とフコイダン負荷試験

C57BL/6Jc1 マウスに対して、CE-2 をベースにした 3%フコイダン含有餌投与群、3%モズク含有餌投与群、コントロール群の 3 群に群分けし、16 週間飼育した。コンドロイチン硫酸を経口投与した先行研究との比較をするために、4 週間後に全ての個体に 3%フコイダン含有餌を与え、糞便を回収した。さらに飼育から 16 週間経過後に全ての個体に固形状の CE-2 を 2 日間与え、餌中フコイダンを体外に排泄させた。その後、50mg/ml フコイダン標準試料 1ml を経口ゾンデを用いて全てのマウスに経口投与し、尿および糞便を回収した。尿および糞便は 12 時間おきに回収した。

糞便中フコイダン分子量分布の解析

前処理済みの糞便ホモジナイズ液は HPLC ゲルろ過クロマトグラフィーを用いて分子量分布の解析を行った。糞便ホモジナイズ液を HPLC に注入し、1 分ごとに 30 分間フラクションを回収し、回収したフラクションはフコイダン特異的 ELISA にて分析した。分子量はプルラン検量線を用い、プルランの検出にはフェノール硫酸法を用いた。

尿並びに糞便中のフコイダン定量と硫化水素測定

前述の ELISA 測定法で尿並びに糞便中のフコイダンの定量を行った。糞便中の硫化水素は前述のメチレンブルー法で測定を行った。尿は Jaffe 法によってクレアチニンを測定してクレアチニン補正を行った。

4. 研究成果

糞便並びに尿中フコイダン測定法の確立

糞便中フコイダンの ELISA 測定のための希釈法による前処理法を検討した。その結果、600 倍希釈以降の回収率がプラトーとなったことから、糞便を ELISA にて定量する際には 1000 倍希釈することとした。この希釈法で添加回収試験を行ったところ、終濃度 1 μ g/mg では回収率 108.7% (SD 19.9)、終濃度 10 μ g/mg では回収率 100.6% (SD 17.2)、終濃度 100 μ g/mg では回収率 103.5% (SD 5.6) となった。なお、添加回収に用いたマウスプール便からはフコイダンは検出されなかった。

尿中フコイダン濃度の測定は、ヒトの測定法 (Tokita et al. Biosci Biotechnol Biochem. 2010) と同様に測定できるかを確認するためにマウス正常プール尿を用いて添加回収試験を行った。その結果終濃度 1 μ g/ml では回収率 107.5% (SD 16.3)、終濃度 10 μ g/ml では回収率 114.1% (SD 17.8)、終濃度 100 μ g/ml では回収率 75.1% (SD 19.4) となった。なお、添回収に用いたマウスプール尿からはフコイダンは検出されなかった。その結果、ヒトと同様にマウスの尿でも測定可能であることが確認された。

マウス糞便中硫化水素定量

マウス糞便による硫化水素測定のための糞便前処理法について検討した。メチレンブルー反応の後に遠心分離し上清の吸光度を測定したサンプルでは回収率が 414.1% (SD 0.068)、MB 反応の前に遠心分離し、その上清を用いて MB 反応させたサンプルの回収率は 91.9% (SD 0.014) となった。従って、以降はホモジナイズサンプルに 4 倍量の酢酸亜鉛を加えた後、遠心分離し回収した上清を用いて MB 反応を行った。

フコイダン並びにモズクの経口摂取後による体内動態解析

餌としてフコイダンやモズクを接種させたのちにフコイダン並びにモズクの負荷試験を実施するにあたって、フコイダン負荷後に検出されるフコイダンを食餌由来のものと区別するために、餌由来のフコイダンが排泄されるまでにかかる時間を検討した。その結果、餌として摂取していたフコイダンが完全に体外へ排泄されるまでには 36 時間を要した。このことから、フコイダン標準試料の経口投与の前に、餌中フコイダンの影響を排除するために少なくとも 36 時間は通常の餌を与える必要があると考えた。また、いずれの個体においても 12 時間後の糞便中にフコイダンが検出されたことから、粉末状の餌と共にフコイダンまたはモズクを十分に摂取していることが言える。なお、フコイダンを餌から摂取していない個体の糞便中からはフコイダンは検出されなかった。以上のことを踏まえて、フコイダン標準試料負荷試験はフコイダン含有餌を通常の餌に切り替えてから 48 時間後に行うこととした。

各マウスに 50mg/ml フコイダンを 1ml 経口投与し、回収した糞便中フコイダン濃度を定量した。3%フコイダン含有餌投与群が若干ではあるが高値を示したが、3%モズク含有餌投与群とコントロール群に顕著な差は見られなかった (図 1)。糞便中のフコイダンの分解の有無を確認するためにゲルろ過クロマトグラフィーを用いて分析を行った。フコイダン含有餌投与群、モズク含有餌投与群、コントロール群の 3 群の分子量に違いは見られず、負荷したフコイダンとも同様の分子量分布となった (図 2)。また、分子量を決定するためにプルラン分子量カーブにより最も大きなピークの分子量を求めたところおよそ 10 万であることが分かった。

続いて、フコイダンの吸収の確認のために、フコイダン負荷試験後の尿中フコイダン濃度の定

量を行った。3%フコイダン含有餌投与群および 3%モズク含有餌投与群で尿中フコイダンが検出された(図 3)。尿中には低分子のフコイダンが検出されるとされていることから、高濃度を示した No.1、No.4 とコントロールとして No.5 の尿をゲルろ過クロマトグラフィーにて分析をし、分子量の変化を確認した(図 4)。フコイダン負荷試験後尿中フコイダン分子量分布解析の結果、No.1 は低分子画分にピークが見られ、No.4 では糞便のゲルろ過クロマトグラフィーと同じ画分にピークが見られた。プルラン分子量カーブより、No.1 の最も大きなピークの分子量はおおよそ 1.5 万、No.4 のピークの分子量は 5~10 万となった。

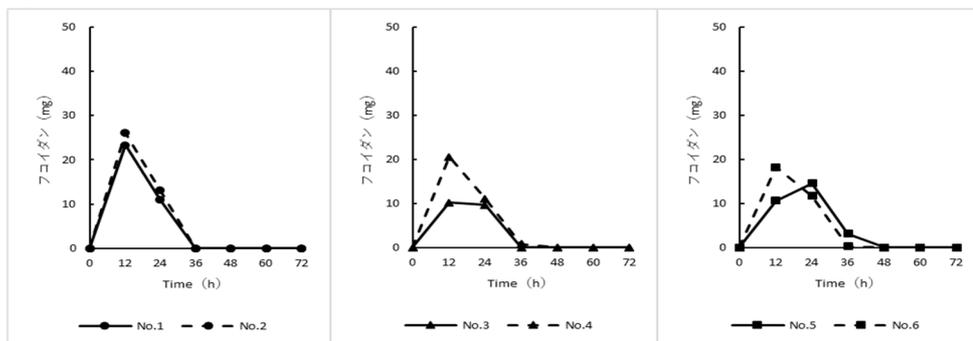
フコイダンまたはモズク含有餌 4 週間摂取後の硫化水素濃度定量

先行研究では、3%コンドロイチン硫酸含有餌摂取後 4 週間の糞便ではコンドロイチン硫酸摂取群で有意な硫化水素の上昇が報告されている (Jennifer Pichette et al. Endocrinology. 2017)。そこで、4 週間のフコイダンまたはモズク含有餌の経口摂取後、糞便中硫化水素濃度を測定したが、コンドロイチン硫酸で見られたような硫化水素の上昇はフコイダンまたはモズクの経口摂取では見られなかった。フコイダン負荷試験の結果、フコイダンの分解・吸収は餌の内容に関係なく糞便中では見られなかった。しかし、尿中に検出されるフコイダンの分子量の解析によれば 3%フコイダン含有餌投与群のマウスでフコイダンの分解・吸収が確認された。この結果を受けて、この時の硫化水素の濃度を定量したところ、コントロール群と比較し、3%フコイダン含有餌投与群の硫化水素濃度が低値を示した(図 5)。

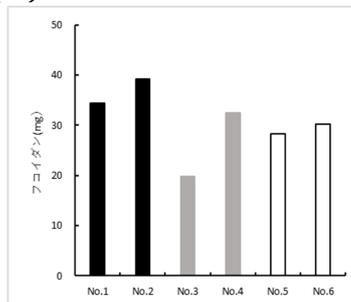
フコイダン負荷試験に先立ってフコイダンやモズクを摂取することで消化管での吸収を意味する尿中フコイダンの濃度が高くなることが確認された。このことは食習慣が消化管内でのフコイダンの分解や吸収に影響を与える可能性が示唆された。しかし、糞便中のフコイダンの分子量変化を確認したところ、糞便中でのフコイダンの分子量変化がみられなかったことからフコイダンの分解は限定的であることが確認された。

先行研究によれば、同じ硫酸化多糖であるコンドロイチン硫酸は消化管内の硫化水素産生を亢進することが報告されているが、フコイダンやモズクを長期摂取したフコイダン分解が亢進していると考えられる群ではむしろ硫化水素が減少する傾向がみられた。

(A)



(B)



(C)

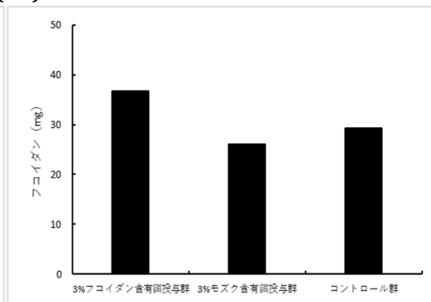
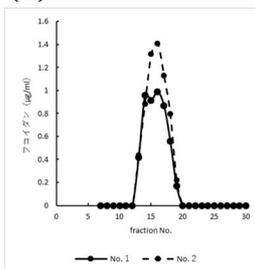
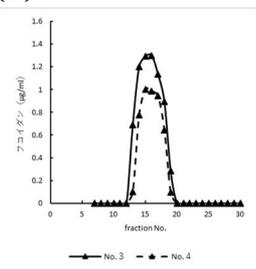


図 1 フコイダン負荷試験後糞便中フコイダンの定量 50mg/ml フコイダン 1ml 経口投与後、72 時間まで 12 時間おきに糞便を回収しフコイダン特異的 ELISA にて分析をした。グラフは 72 時間の糞便中総フコイタン量を示す。(A)フコイタン量の経時的変化、(B)各個体の糞便中フコイタン濃度、(C)群平均糞便中フコイタン量を示す。

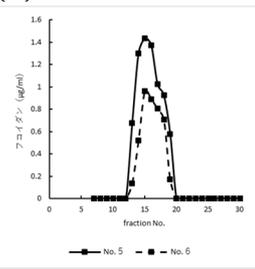
(A)



(B)



(C)



(D)

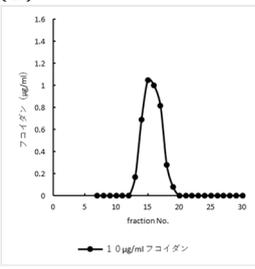


図 2 フコイダン負荷試験後糞便中フコイダン分子量分布解析 糞便をゲルろ過クロマトグラフィーで分離し ELISA を用いて検出をした。(A) 3%フコイダン含有餌投与群、(B) 3%モズク含有餌投与群、(C) コントロール群の結果を示す。また、経口投与したフコイダン標準試料を 10 µg/ml に希釈し、糞便のサンプルと同様にゲルろ過クロマトグラフィーおよび ELISA にて分析した結果を (D) に示す。

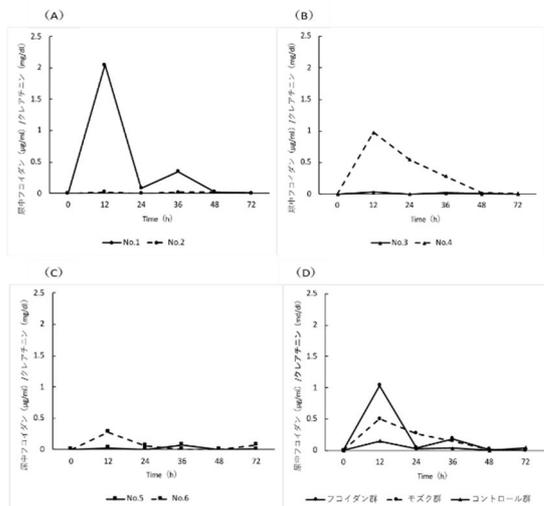


図3 尿中フコイダンの定量 マウスに50mg/ml フコイダンを1ml 経口投与後、72 時間まで12 時間おきに回収した尿に含まれるフコイダンを定量した。(A) 3%フコイダン含有餌投与群、(B) 3%モズク含有餌投与群、(C) コントロール群、(D) 群平均値の結果を示す。

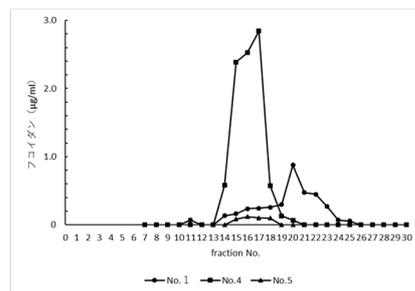


図4 負荷試験後尿中フコイダン分子量分布解析 No.1 (:3%フコイダン含有餌投与、)No.4 (:3%モズク含有餌投与) No.5 (:コントロール)の結果を示す。

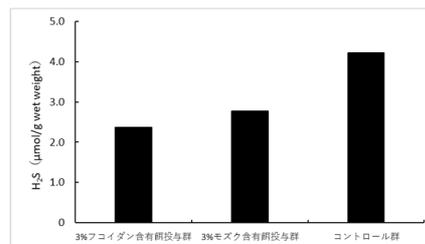


図5 フコイダン負荷試験により得られた糞便中硫化水素濃度 50mg/ml フコイダンを1ml 経口投与後、48 時間までの糞便中硫化水素濃度をMB法にて測定し、糞便1gあたりの濃度に換算した。(A) 各個体の硫化水素濃度、(B) 群平均の硫化水素濃度を示す。

《引用文献》

- Tokita Y, Nakajima K, Mochida H, Iha M, Nagamine T. Development of a fucoidan-specific antibody and measurement of fucoidan in serum and urine by sandwich ELISA. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2010;74:350-7.
- Nagamine T, Nakazato K, Tomioka S, Iha M, Nakajima K. Intestinal absorption of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Cladosiphon okamuranus*. *Mar Drugs.* 2014 Dec 25;13:48-64.
- Chen F, Ni Y, Liu B, Zhou T, Yu C, Su Y, Zhu X, Yu X, Zhou Y. Self-crosslinking and injectable hyaluronic acid/RGD-functionalized pectin hydrogel for cartilage tissue engineering. *Carbohydr Polym.* 2017 Jun 15;166:31-44.
- Ida T, Sawa T, Ihara H, Tsuchiya Y, Watanabe Y, Kumagai Y, Suematsu M, Motohashi H, Fujii S, Matsunaga T, Yamamoto M, Ono K, Devarie-Baez NO, Xian M, Fukuto JM, Akaike T. Reactive cysteine persulfides and S-polythiolation regulate oxidative stress and redox signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 May 27;111:7606-11.
- Liu Y, Xie Y, Wang H, Huang H. Enantioselective Aminomethylation of Conjugated Dienes with Aminals Enabled by Chiral Palladium Complex-Catalyzed C-N Bond Activation. *J Am Chem Soc.* 2016 Apr 6;138:4314-7.
- Hehemann JH, Correc G, Barbeyron T, Helbert W, Czejek M, Michel G. Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature.* 2010 Apr 8;464:908-12.
- Alessandra Strocchi, Julie K. Furne, Michael D. Levitt: A modification of the methylene blue method to measure bacterial sulfide production in feces. *Journal of Microbiological Methods* 15, 1992, 75-82.
- Jennifer Pichette, Nancy Fynn-Sackey, Jeffrey Gagnon: Hydrogen Sulfide and Sulfate Prebiotic Stimulates the Secretion of GLP-1 and Improves Glycemia in Male Mice. *Endocrinology*, 2017, 3416-3425.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakajima Katsuyuki, Tokita Yoshiharu, Tanaka Akira	4. 巻 5
2. 論文標題 Atherogenic postprandial remnant lipoproteins? a causal lipoproteins for the initiation of obesity and atherosclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Laboratory and Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 19 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jlpm.2020.03.01	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 Watanabe Hideomi, Makino Takatoshi, Tokita Yoshiharu, Kishi Mikiko, Lee Bumsuk, Matsui Hiroki, Shinozaki Hiromitsu, Kama Akinori	4. 巻 33
2. 論文標題 Changes in attitudes of undergraduate students learning interprofessional education in the absence of patient safety modules: evaluation with a modified T-TAQ instrument	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Interprofessional Care	6. 最初と最後の頁 689 ~ 696
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13561820.2019.1598951	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 Nakajima Katsuyuki, Tokita Yoshiharu, Tanaka Akira, Takahashi Sadao	4. 巻 495
2. 論文標題 The VLDL receptor plays a key role in the metabolism of postprandial remnant lipoproteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 382 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2019.05.004	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 Nakajima Katsuyuki, Tokita Yoshiharu, Tanaka Akira	4. 巻 485
2. 論文標題 Hypothesis: Postprandial remnant lipoproteins are the causal factors that induce the insulin resistance associated with obesity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 126 ~ 132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2018.06.029	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 Nakajima Katsuyuki、Tokita Yoshiharu、Tanaka Akira	4. 巻 490
2. 論文標題 Hypothesis II: The majority of VLDL-apoB48 remnants in postprandial plasma are derived from the liver, not from the intestine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 12~16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2018.12.010	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 時田佳治、今井絢子
2. 発表標題 海産物由来硫酸化多糖フコイダンの海藻長期摂取による体内動態変化と消化管内硫化 水素産生評価
3. 学会等名 第27回日本未病学会学術総会
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
---------	---------