

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K18452

研究課題名(和文) Deep Learningによる神経変性画像解析の研究

研究課題名(英文) Imaging studies of neurodegeneration by deep learning

研究代表者

井上 治久 (Haruhisa, Inoue)

京都大学・iPS細胞研究所・教授

研究者番号：70332327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：ALSなどの神経変性疾患では、超早期病変の病態の検出と解明が必要である。本研究では、健常者及びALS患者iPS細胞を用いて運動神経細胞を作製後、撮像し、膨大な画像情報を収集した。神経変性を予知する指標を得るために、この情報を数千次元の解析が可能なDeep Learningで学習することで、通常の解析では検出できない超早期の病的変化を同定した。Deep Learningは、通常の解析では検出できないALS運動神経細胞の病変を検知した。本結果から、Deep LearningはALSの診断をサポートするとともに、本方法が将来的なALSの治療促進と克服につながる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、人工知能(Artificial Intelligence: AI)を用いて、神経難病である筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態の検知・診断への応用を目指した研究を行いました。本研究では、人間の考えを挟むことなく大量のデータからその特徴を抽出できるDeep LearningというAIとiPS細胞由来運動神経細胞を用いて、ALSを予測するAIモデルを構築しました。本研究成果は、今後のAIとiPS細胞のテクノロジー融合による疾患予測と克服に貢献することが期待されます。

研究成果の概要(英文)：In neurodegenerative diseases including ALS, it is necessary to detect and elucidate the pathogenesis of very early lesions. In this study, we generated and imaged motor neurons using iPS cells from healthy subjects and ALS patients, and collected a copious amount of image information. This information was trained by deep learning, which can analyze thousands of dimensions, to identify very early pathological changes that cannot be detected by conventional analysis, and to obtain an index to predict neurodegeneration. Deep learning detected lesions in ALS motor neurons that were undetectable by conventional analysis. The results suggest that deep learning can support the diagnosis of ALS and that this method may help to promote ALS treatment in the future.

研究分野：神経変性疾患

キーワード：ALS Deep Learning 超早期病態 診断 データサイエンス

1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は、人工呼吸器を使用しなければ、発症後の生存期間は 3~5 年という神経変性疾患である。ALS の臨床診断は、筋力低下や腱反射亢進などの神経学的所見に基づいて行われるが、これらの所見は病態が進行して表在化してくるため、診断までに時間がかかる場合がある。ALS では、早期診断が現在の症状を改善するための数少ない治療と将来の治療に重要である。すなわち、今後発見されるであろう効果的な疾患修飾療法にとっても、早期診断が必要である。

2. 研究の目的

本研究では、ALS 患者 iPS 細胞を用いて運動神経細胞を作製し、運動神経細胞から得られる膨大な画像情報を収集し、この情報を数千次元の解析が可能な Deep Learning で学習することで、通常の解析では検出できない早期の病的変化を検出し ALS 予測モデルの構築を行った。

3. 研究の方法

(1) iPS 細胞の作製

健常対照者および ALS 患者の線維芽細胞または末梢血単核細胞 (PBMC) から、OCT3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, およびドミナントネガティブ p53 のエピソームベクター、または OCT3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, および p53 に対する shRNA を用いて iPS 細胞を作製した。ペニシリン/ストレプトマイシンを添加した StemFit 培地を用いて、フィーダーフリーおよびゼノフリーの培養システムで培養した。

(2) ALS 関連遺伝子の解析

健常対照者および ALS 患者の線維芽細胞または PBMC から、PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を用いて、ゲノム DNA を分離した。SOD1, TARDBP, FUS, OPTN, VCP, SQSTM1, SIGMAR1, UBQLN2, TBK1 などの ALS 関連遺伝子の変異の有無を調べるために、Ion Proton System (Life Technologies, Carlsbad, CA) を用いて、Ion AmpliSeq Library Kit 2.0 (Life Technologies) と Ion PI Hi-Q Chef Kit (Life Technologies) のプロトコールに従って、既に報告されているのと同様の方法でターゲットシーケンスを行った。イオンプロトンシーケンスでアンプリコンカバレッジを調べ、バリエーションは Torrent Suite ソフトウェア 5.10 を用いて同定し、Applied Biosystems 3130 DNA sequencer (Life Technologies 社) を用いて、標準的なポリメラーゼ連鎖反応に基づく増幅とその後のサンガーシーケンスによって検証した。バリエーションは、予測アルゴリズム (Sorting Intolerant from Tolerant [<http://sift.jcvi.org/>], PolyPhen-2 [<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>], MutationTaster [<http://www.mutationtaster.org/>], および Combined Annotation Dependent Depletion [CADD; <https://cadd.gs.washington.edu/>]) によって、アミノ酸の置換がタンパク質に影響を与えるかどうかを予測した。さらに、dbSNP137 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), ToMMo (<https://jmorp.megabank.tohoku.ac.jp/>), 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org/>), および ExAC (<https://gnomad.broadinstitute.org/>) も使用した。バリエーションは、2 つ以上の予測アルゴリズムが陽性であること (CADD スコアの閾値は 20 以上とした)、バリエーションの頻度が 0.005 以下であること、また、ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) の登録情報も利用するという条件で、病原性を評価した。C9ORF72 リピート拡大は、以前に確立されたプロトコールに従って評価した。

(3) iPS 細胞から運動神経細胞への分化誘導

iPS 細胞を単一細胞に分離後、U 字型の 96 ウェルプレート (Lipidule-Coated Plate A-U96; NOF Corporation Tokyo) に再集合させた。Dulbecco modified Eagle medium/Ham's F12 (Thermo Fisher Scientific), 5% KSR (Invitrogen, Waltham, MA), minimum essential medium-nonessential amino acids

(Invitrogen)を含む EB 培地で凝集体を培養した。L-グルタミン (Sigma-Aldrich, St Louis, MO)、2-メルカプトエタノール (Wako, Osaka, Japan)、2 μ M dorsomorphin (Sigma-Aldrich)、10 μ M SB431542 (Cayman, Ann Arbor, MI)、3 μ M CHIR99021 (Cayman)、および 12.5 ng/ml 線維芽細胞成長因子 (和光) を神経誘導期に 11 日間投与した。100 ナノモルのレチノイン酸 (Sigma-Aldrich) と 500 nM の平滑化リガンド (Enzo Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY) を 4 日目に添加した。パターニング後 ニューロバサル培地 (サーモフィッシャーサイエンティフィック社) を用いて B27 サプリメント (サーモ・フィッシャー・サイエンティフィック) を加えた。100 nM のレチノイン酸、500 nM のスミージングリガンド、および 10 μ M の DAPT (Selleck, Houston, TX) で凝集体を分離した。Accumax (Innovative Cell Technologies, San Diego, CA) を用いて凝集体を分離し、単細胞に分解した。凝集体をアキュマックス (Innovative Cell Technologies, San Diego, CA) で分離し、単細胞に分解した後、マトリゲル (BD Biosciences, 16 日目に Matrigel (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) でコートしたディッシュに接着させた。接着細胞は、10 ng/ml 脳由来神経栄養因子 (R&D Systems, Minneapolis, MN) を添加したニューロバザール培地で培養した。10 ng/ml グリア細胞株由来神経栄養因子 (R&D Systems 社および 10 ng/ml ニューロトロフィン-3 (R&D システムズ) を添加した培地を用いた。21 日目、Accumax を用いて細胞を単細胞に分離し、iMatrix でコートした 24 ウェルプレート (Corning, Corning, NY) に 2×10^5 細胞/ウェルで播種した。23 日目、細胞を 4% パラホルムアルデヒドで固定し、その後、免疫染色とイメージングを行った。

(4) 免疫染色

細胞を 4% パラホルムアルデヒドで 30 分間、室温で固定し、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 2 回洗浄し 0.1% Triton X-100 を含む PBS で 10 分間、室温で透過処理を行った。その後、Block Ace (雪印メグミルク 東京 日本) で 30 分ブロッキングした。続いて 一次抗体とインキュベートした後、抗ニューロフィラメント H 抗体 1:1,000; Millipore, Billerica, MA) で一晩インキュベートした。4°C でインキュベートした後、細胞を PBS で 3 回洗浄し、その後、Alexa 488 を用いた二次抗体でインキュベートした。二次抗体 (Alexa 488) と室温で 1 時間インキュベートした。細胞の画像は、IN Cell Analyzer 6000 (GE Healthcare, Chicago, IL) を用いて行った。IN Cell Developer toolbox software v1.9 (GE Healthcare) を用いて、細胞数、神経突起の長さ、体細胞の大きさを定量化した。切断されたカスパーゼ-3 の分析のために、細胞は抗カスパーゼ-3 抗体 (1:500; Cellsigning Technology 社) で染色された。細胞は、抗切断型カスパーゼ-3 抗体 (1:500; Cell Signaling Technology, 抗 β III チューブリン抗体 (1:1,000; Millipore 社) で染色した。切断型カスパーゼ-3 陽性細胞数と β III tubulin 陽性細胞の数を IN Cell Developer toolbox software v1.9 (GE Healthcare) を用いて定量化した。IN Cell Analyzer 6000 (GE) による画像取得後、IN Cell Developer toolbox software v1.9 (GE Healthcare) を用いて定量化した。

(5) 細胞画像データを用いた Deep Learning

健常対照者と ALS の運動神経細胞には、コード化されたサンプル名がコード化された匿名の番号が割り当てられている。同じ 24 ウェルプレートでランダムに培養した。プレートの位置などの潜在的な交絡因子が、対照群と疾患群で十分に異なることを考慮して、同じ 24 ウェルプレートで無作為に培養した。免疫組織化学的染色は、クローン名がわからないようにブラインドで行った。画像取得後、Deep Learning に使用するためにサンプル名を合わせた。ImageNet データセットで事前に学習させた VGG-16 ネットワークを採用し、過学習を防ぐための正則化を行った。入力画像を 256×256 にリスケールし、ImageNet 画像の平均値を差し引いた。ImageNet 画像の平均値を差し引いた。訓練データセットの画像は、ネットワークに入力する際に、回転、移動、拡大、反転をランダムに行った。学習の際には、置換された完全連結層の重みのみを更新した。重みの最適化は、モーメンタム項付き降下法確率的勾配降下法を用いた。学習率 ($10^{-4} \leq$ 学習率 $\leq 10^{-2}$) とモーメンタム ($0.7 \leq$ モーメンタム ≤ 1.0) は、以下のモジュールで調整した。Hyperas (v0.4) モジュールを用いて、検証データの精度に応じて調整した。学習バッチのサイズは

32であった。続いて、ハイパーパラメータを調整したネットワークを64回のエポックで学習させ、テストデータを用いて予測性能を検証した。予測精度と、ROC曲線のAUC(area under the curve)を評価した。畳み込みニューラルネットワーク(CNN)がどこに焦点を当てて画像を処理しているかを解釈するために、Gradient-weighted class activation mapping(Grad-CAM)と Guided Grad-CAM アルゴリズムを用いた。これらの処理は、GTX1080Ti 上で、Keras/TensorFlow フレームワーク(v1.13.1)12を用いて、CUDA 10.0により実装された。

(6) 機械学習(Random Forest Classifiers)による解析

総神経突起長、細胞数、神経細胞体の平均サイズは、IN Cell Analyzer 6000で取得した。この3つの特徴を用いて機械学習の一種であるランダムフォレスト分類法を用いて健康対照者とALS患者のどちらの細胞画像かを推定するためにALS患者から得られたものであるかを推定するために、ランダムフォレスト分類器を学習させた。ROC曲線のAUCを評価してCNNとの性能比較を行った。トレーニングデータセットとテストデータセットのグループ分けは、CNNによる分類と全く同じである。ランダムフォレスト分類器はscikit-learn(v0.23.2)で実装した。

(7) 倫理

ヒトiPS細胞の作製と使用については、京都大学の倫理委員会の承認を得ている。すべての方法は、承認されたガイドラインに従って行われた。すべての被験者から正式なインフォームド・コンセントを得た。

4. 研究成果

iPS細胞由来の運動神経細胞の画像を用いて、Deep LearningによるALS予測モデルを構築した(図1、図2)。健康対照者15人と、ALS関連遺伝子に変異のない孤発性ALS患者15人のiPS細胞を、脊髄運動神経細胞に分化させた。分化後のサンプルは、運動神経細胞マーカーであるニューロフィラメントHで免疫染色し、盲検下で共焦点顕微鏡を用いて画像を取得した。

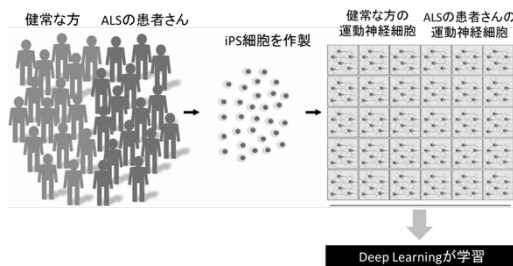


図1. iPS細胞由来の運動ニューロンとDeep Learningを用いたALSの予測モデルの模式図

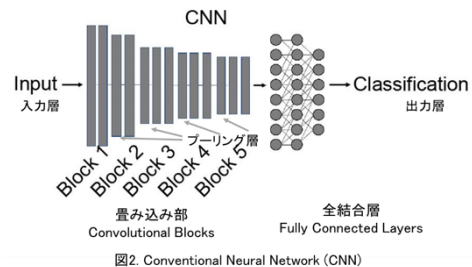


図2. Conventional Neural Network (CNN)

健康対照群とALS患者の代表的な運動神経細胞の図を示す(図3)。Tensorflow/Kerasを用いて、ImageNet16データセットで事前学習したVGG-16ネットワークを用いて健康対照者の運動神経細胞と

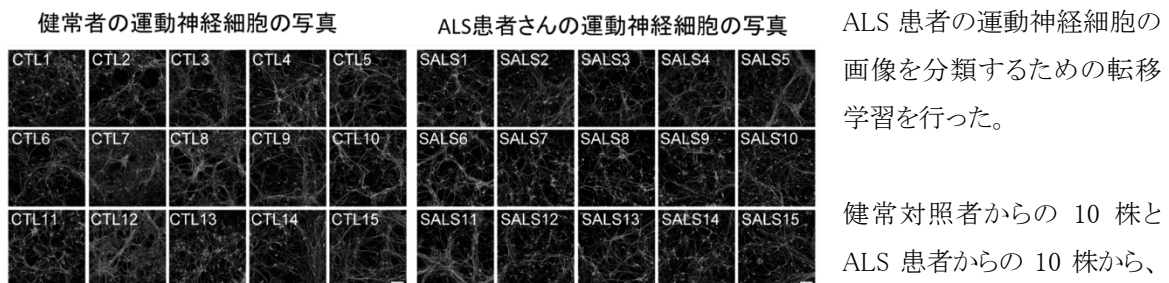


図3. iPS細胞から作製した健康対照者(CTL)とALS患者運動ニューロンの代表画像

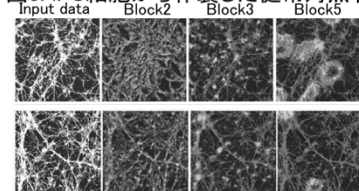


図4: Grad-CAMを用いたDeep Learningの検知部位の解析

健康対照者からの10株とALS患者からの10株から、225枚ずつの画像、合計4,500枚の画像がトレーニングデータセットとして使用された。3つの独立した健康対照者株と3つのALS患者株からの合計1,350の画像がバリデーションデータセットとして使用され、2つの健康対照者株と2つのALS患者株か

らの 900 の画像がテストデータセットとして使用された。トレーニング、バリデーション、テストのそれぞれに使用したクローンは重複していない。偏りのない評価を行うために、すべてのクローンがバリデーションとテストの両方に少なくとも一度は含まれるように、最小限の分析セットを構築した。データの分割は、すべての異なるクローンが異なるグループで使用されていることを確認したうえで、トレーニングデータ、バリデーションデータ、テストデータからなる 55 セットを作成し、評価を行った。CNN は学習中に明らかな検証損失の増加を伴わずに学習データセットを学習したことから、予測モデルは明らかなオーバーフィッティングを伴わずに学習されたと考えられる。平均精度は 0.90 ± 0.10 (平均±標準偏差[SD])、健常対照者運動神経細胞と ALS 運動神経細胞を分類した ROC 曲線の AUC は 0.97 ± 0.04 (平均±SD) だった。プリトレーニングされた Deep Learning で画像がどのように処理されたかを視覚的に理解するために、Grad-CAM を適用した(図 4)。ブロック 2 からの出力では神経突起が、ブロック 3 からの出力では神経細胞体が検出された。これは Deep Learning が運動神経細胞の形態変化、特に神経突起と細胞体の変化を捉えたことを示している。

実験バッチ間の差を検討するために、独立した 3 回の分化実験で得られた画像を、すでに得られているトレーニングセットとバリデーションセットを用いてテストデータとして評価したところ、これらのバッチで高い精度が得られ、バッチエフェクトを超越した高い分類精度を確認した。一方、iPS 細胞の継代数と分類精度には明らかな関連性は見られなかった。

次に、臨床情報と分類精度との関連性を調べた。限られたサンプル数での解析ではあるが、罹患期間と分類精度には相関が見られた。同じタスクを訓練された 10 人の細胞生物学に従事するヒトが行ったときのパフォーマンスを評価したところ、正答率は 0.54 ± 0.08 (平均±SD) であり、CNN が人間よりも高い分類性能を示していると考えられた。

切断型カスパーゼ 3 で検出された細胞死の比率は、健常対照者運動神経細胞画像と ALS 運動神経細胞画像で差がなかった(コントロール、 $n = 15$; ALS、 $n = 15$; mean ± SD, Student's t-test で有意ではない。) また、Deep Learning に使用したオリジナル画像を、従来の解析手法であるハイコンテントアナリシスを用いて評価したところ、AL 運動神経細胞は、健常対照者運動神経細胞に比べて、細胞数、体細胞サイズ、神経突起長の値が小さい傾向が見られたが、これらの細胞特徴に有意な差は見られなかった(対照群、 $n = 15$ 、ALS 群、 $n = 15$)。さらに、従来の機械学習モデルであるランダムフォレストでは、これらの特徴を用いた分類の精度は低かった。図 2 参照)。

我々は、Deep Learning と iPS 細胞由来の運動神経細胞画像を用いて ALS の予測モデルを実証した。ALS は継続的に進行する病気であり、治療を効果的に行うためには、病気の経過の正確な時点で治療を行う必要がある。我々のモデルと、血中/髄液中のニューロフィラメントレベルなどの臨床バイオマーカーを組み合わせることで、より精度の高い ALS の分類が可能になるかもしれない。さらに、ステージが進行した ALS 患者に対しては、将来的に本モデルを予後予測や治療法選択のための層別化に応用できる可能性がある。

参考文献

1. Imamura K, et al., Prediction model of amyotrophic lateral sclerosis by deep learning with patient induced pluripotent stem cells, *Annals of Neurology* 2021, 89(6) 1226-1233.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4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 Imamura Keiko, Yada Yuichiro, Izumi Yuishin, Morita Mitsuya, Kawata Akihiro, Arisato Takayo, Nagahashi Ayako, Enami Takako, Tsukita Kayoko, Kawakami Hideshi, Nakagawa Masanori, Takahashi Ryosuke, Inoue Haruhisa	4. 巻 89
2. 論文標題 Prediction Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis by Deep Learning with Patient Induced Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Neurology	6. 最初と最後の頁 1226 ~ 1233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ana.26047	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 Hidaka Tadashi, Imamura Keiko, Hioki Takeshi, Takagi Terufumi, Giga Yoshikazu, Giga Mi-Ho, Nishimura Yoshiteru, Kawahara Yoshinobu, Hayashi Satoru, Niki Takeshi, Fushimi Makoto, Inoue Haruhisa	4. 巻 1
2. 論文標題 Prediction of Compound Bioactivities Using Heat-Diffusion Equation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Patterns	6. 最初と最後の頁 100140 ~ 100140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.patter.2020.100140	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 Karagiannis Peter, Inoue Haruhisa	4. 巻 107
2. 論文標題 ALS, a cellular whodunit on motor neuron degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 103524 ~ 103524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mcn.2020.103524	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 Karagiannis Peter, Muotri Alysson, Inoue Haruhisa	4. 巻 110
2. 論文標題 Reprogramming the brain in and out of diseased states	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 103571 ~ 103571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mcn.2020.103571	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 6. 川澄侑哉, 今村恵子, 井上治久	4. 巻 272
2. 論文標題 iPS細胞技術によるALS研究	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 541~544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 井上治久	4. 巻 105
2. 論文標題 日本ALS協会静岡県支部総会講演「ALSの最新の研究と治療」	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本ALS協学会報SSK JALSA	6. 最初と最後の頁 33~37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 3件)

1. 発表者名 井上治久
2. 発表標題 幹細胞を用いた神経疾患研究
3. 学会等名 第25回日本難病看護学会・第8回日本難病医療ネットワーク学会合同学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Inoue H
2. 発表標題 Basic and translational disease modeling with patient iPSC-derived neural cells, Modeling Development and Disease: Neural
3. 学会等名 International Society for Stem Cell Research ISSCR 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上治久
2. 発表標題 iPS細胞を用いたALSの治療薬研究開発
3. 学会等名 島根県難病フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inoue H
2. 発表標題 iPSCs for neurological disorders: A decade of progress, hurdles, and beyond
3. 学会等名 International Symposium on NEW FRONTIER in NEUROSCIENCE（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inoue H
2. 発表標題 Human pluripotent stem cells in neurological disease modeling and drug discovery
3. 学会等名 The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上治久
2. 発表標題 ALSの最新の研究と治療
3. 学会等名 日本ALS協会静岡県支部総会（招待講演）
4. 発表年 2018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
研究分担者	近藤 孝之 (Takayuki Kondo) (80536566)	京都大学・iPS細胞研究所・特定拠点講師 (14301)	
研究分担者	矢田 祐一郎 (Yuichiro Yada) (80805797)	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・特別研究員 (82401)	

	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	今村 恵子 (Keiko Imamura)	京都大学・iPS細胞研究所	
研究協力者	月田 香代子 (Kayoko Tsukita)	京都大学・iPS細胞研究所	
研究協力者	高橋 良輔 (Ryosuke Takahashi)	京都大学・大学院医学研究科	
研究協力者	和泉 唯信 (Yuishin Izumi)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部	

6. 研究組織（つづき）

	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	中川 正法 (Masanori Nakagawa)	京都府立医科大学・大学院医学研究科	
研究協力者	川上 秀史 (Hideshi Kawakami)	広島大学・原爆放射線医科学研究所	
研究協力者	森田 光哉 (Mitsuya Morita)	自治医科大学・内科学講座	
研究協力者	川田 明広 (Akihiro Kawata)	東京都立神経病院	
研究協力者	有里 敬代 (Takayo Arisato)	南九州病院・脳神経内科	
研究協力者	江浪 貴子 (Takako Enami)	国立研究開発法人理化学研究所・革新知能統合研究センター	
研究協力者	永橋 文子 (Ayako Nagahashi)	国立研究開発法人理化学研究所・革新知能統合研究センター	

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