

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11791

研究課題名(和文) CCR2陽性マクロファージがNASHの肝線維化を進展させる分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of liver fibrosis progression by CCR2-positive macrophages in NASH

研究代表者

稲垣 純子 (Inagaki, Junko)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：90271056

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)：非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の肝線維化の分子制御機構を明らかにするため、HFC食負荷により作製したNASHラットモデル肝組織を用い、CCR2およびオステオポンチン(OPN)の発現領域について解析した。その結果、OPNはHFC食負荷週数が増加するにつれ拡大するが、線維化早期では主にマクロファージのみに発現していることが分かった。線維化が進展するにつれ、マクロファージ集簇内でOPN陽性領域が拡大しCCR2が減弱化していたことから、線維化早期のマクロファージ集簇は主にCCR2陽性マクロファージが構成し、次第にOPN陽性マクロファージに置き換わるという動態変化が起きることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果より、肝線維化早期には、主にCCR2陽性マクロファージがマクロファージ集簇を構成し、次第にそれらがOPN陽性マクロファージに置き換わるという動態変化が起きる可能性を示すことができた。両マクロファージおよびOPNによる肝線維化促進の分子メカニズムを明らかにすることで、肝線維化治療の新たな創薬ターゲットの発見、治療法の開発および創薬研究につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the expression regions of CCR2 and osteopontin (OPN) using NASH rat model liver tissues, to elucidate the molecular mechanism of liver fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis (NASH). In this study, the OPN expression region expanded as the increased number of weeks of HFC diet feeding, but its expression was observed only in the macrophages in the early stage of fibrosis. Moreover, as liver fibrosis progressed, OPN-positive region expanded and CCR2 was attenuated in the macrophage aggregation. Therefore, in the early stage of fibrosis, the macrophage aggregation was mainly composed CCR2-positive macrophages and gradually became OPN-positive macrophages. It became clear that a dynamic change of replacement occurs. This result suggests that there are different groups of OPN-positive and CCR2-positive macrophages and they may be closely related.

研究分野：生化学

キーワード：NASH CCR2陽性マクロファージ 線維化 オステオポンチン マクロファージ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、食生活の欧米化に伴い非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の患者が急増している。NASH は、過剰飲酒歴がないにも関わらず肝細胞の30%以上に脂肪滴が認められ、単純性脂肪肝と比べ一定の割合で肝硬変や肝がんへと進展する疾患である。その主な背景疾患としてメタボリックシンドロームが挙げられ、近年の肥満人口増加に伴いその病態が注目されている。しかしながら、NASHの病態は未だ不明な点が多く、有効な治療法も確立されていないため、肝線維化進展のメカニズムの解明とその抑制は社会的にも急務とされている。

線維化において活性化した星細胞が中心的な役割を持つことには異論はないが、星細胞活性化のメカニズムは実はまだよくわかっていない。一方で最近、マクロファージが組織の線維化に関わっている事実も示されてきている。とりわけ炎症を誘導するCCR2陽性マクロファージによる線維化組織への浸潤・蓄積が確認されていることから、このCCR2陽性マクロファージが肝星細胞活性化を介してオステオポンチン (OPN) など肝線維化に働く細胞外マトリックスを発現し、代謝に関わるマトリックス分解酵素 (MMP) を抑制しているのではないかと着想した。そこで本研究では、CCR2陽性マクロファージによる星細胞活性化および筋線維芽細胞への分化、OPNやMMPの発現制御の分子メカニズムを検討し、CCR2陽性細胞を介した肝線維化の分子機構を解明することとした。

2. 研究の目的

本研究ではラットNASHモデルを用いた動物実験およびCCR2陽性細胞を用いた細胞実験を設定し、これまで肝線維化はコラーゲンの発現を調べるSirius red染色や平滑筋アクチン (SMA) 免疫染色などで評価を行うことが多かったが、今回は線維化の指標としてOPNをターゲットにして、CCR2陽性マクロファージが肝星細胞活性化・筋線維芽細胞分化作用を持ち、OPNの発現を誘導して肝臓の線維化を促進しているという可能性を証明する。

3. 研究の方法

(1) NASH ラットモデルの肝組織を用いた OPN、CCR2 の発現局在

SHRSP5/Dmcr ラットは、高脂肪・高コレステロール (HFC) 食を投与することで顕著な NASH 病態に加え炎症細胞の著明な浸潤などの特徴を示す。これらの NASH ラットモデルの肝組織を用いて Masson Trichrome (MT) 染色、OPN と CCR2 の免疫染色、蛍光二重免疫染色を行った。HFC 食負荷週数 4 週、6 週、8 週における肝組織の OPN 発現細胞の解析には、マクロファージ全般のマーカーである CD68、筋線維芽細胞のマーカーである SMA に対する抗体を使用した。コントロールとしては標準食である SP 食をそれぞれ同期間負荷した群を用いた。

(2) THP-1 (ヒト単球系白血病細胞株) の分化誘導における OPN、CCR2 の発現変動

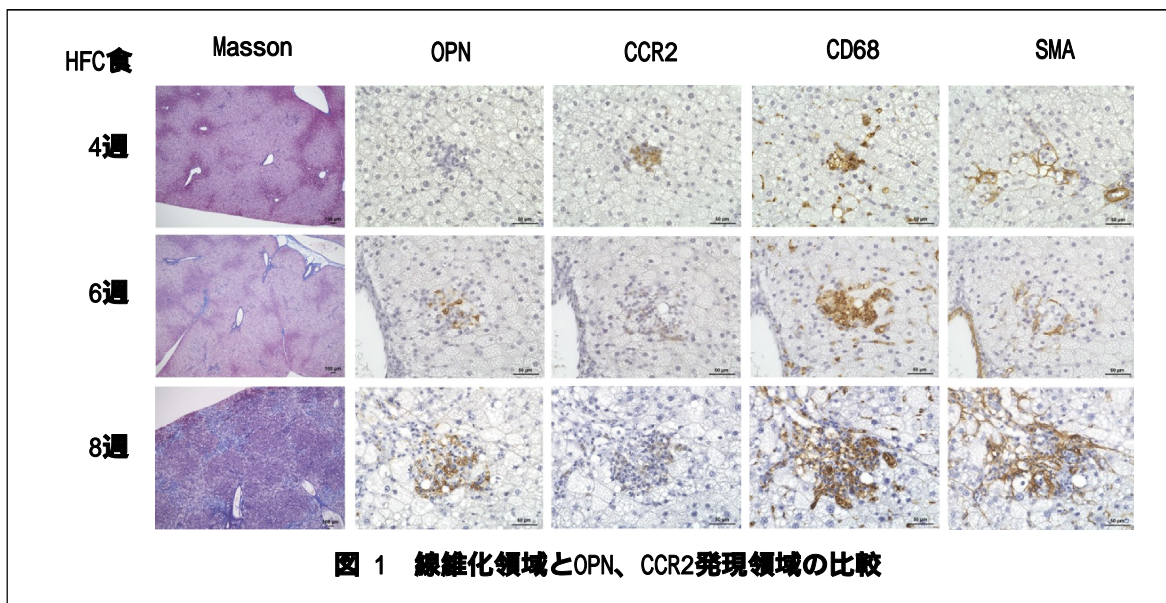
THP-1 細胞を用い、Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) 処理することでマクロファージに分化させ、OPN や CCR2 の発現変化を mRNA レベルで解析した。さらに、分化誘導時の OPN の発現量を siRNA により抑制することで、CCR2 分子の発現変動への直接的な影響について解析した。

4. 研究成果

(1) NASH ラットモデルの肝組織を用いた OPN、CCR2 の発現局在

HFC 食負荷週数 4 週、6 週、8 週における肝組織において、MT 染色により、負荷週数の増加に伴いコントロール群と比較して線維化領域が拡大していることを確認した (図 1)。OPN は炎症細

胞浸潤領域と線維化領域の混在した場所で発現しており、OPN 発現領域は HFC 食負荷週数が増えるにつれ拡大していた。また、OPN の局在は CCR2、CD68 および SMA 陽性細胞近傍領域に確認され、線維化の進展に伴い各陽性域とも拡大していた。興味深いことに、HFC 食負荷 4 週、6 週では OPN、CCR2 の局在は、ともに CD68 陽性マクロファージ集簇内のみにはしか確認されなかった。さらに、そのマクロファージ集簇内では OPN 陽性域よりも CCR2 陽性域の占める割合が大きかったことが分かった。ところが、負荷週数が増すにつれマクロファージ集簇内では、CCR2 陽性域よりも OPN 陽性域の占める割合が大きくなっていることが確認された(図 1)。蛍光二重染色では、OPN と CD68 の共局在が HFC 食 4 週や 6 週で見られた一方、OPN と CCR2 の共局在はどの肝組織においても見当たらなかった。また、線維化の進んだ HFC 食 8 週では CD68 と共局在を示さない OPN 単独陽性の細胞が数多く確認された(図 1)。



HFC 食負荷による NASH モデルラットでは、線維化が進展するにつれ CD68、SMA の発現領域が増大し、それに伴い OPN 陽性領域も拡大していたことから本モデルにおいても OPN は肝線維化促進性に働いていることが示唆された。また、HFC 食 8 週では CD68 や SMA と共局在を示さない OPN 陽性細胞が多数確認されたものの、HFC 食 4 週や 6 週では OPN の局在はマクロファージ集簇内に留まり CD68 と共局在を示したことから、線維化早期には主にマクロファージが発現し、線維化の進展に伴い、マクロファージ以外の肝臓を構成する細胞からも OPN が産生され線維化が促進されることが示唆された。

OPN と CCR2 の局在は類似していたものの共局在を示さなかったことから、OPN 陽性マクロファージと CCR2 陽性マクロファージという異なる群が存在し密接に関連している可能性がある。さらに、線維化が進展するにつれ、マクロファージ集簇内で OPN 陽性領域が拡大し CCR2 が減弱化していたことから、線維化早期には、主に CCR2 陽性マクロファージがマクロファージ集簇を構成し、次第にそれらが OPN 陽性マクロファージに置き換わるという動態変化が起きる可能性も示唆された。

(2) THP-1 (ヒト単球系白血病細胞株) の分化誘導における OPN、CCR2 の発現変動

THP-1 細胞では単球からマクロファージへと分化する過程で OPN の mRNA 発現量が激増する一方、CCR2 の mRNA 発現量は 10%程度に低下することが分かった。

単球由来 CCR2 陽性マクロファージにおいて、その分化課程で産生された OPN に CCR2 発現を減

弱化させる作用があると見て、OPN siRNA を用い OPN 遺伝子ノックダウンを試みた。その結果、この系においては、CCR2 発現量の有意な減少は見られなかった。今後さらにタンパク質発現レベル等での解析や正常マウス腹水中の単球/マクロファージを用いて CCR2 および OPN ばかりでなく代謝に関わる MMP 等の発現についても同様の検討をする必要があると考える。

近年、マクロファージの多様性に関する理解が急速に深まりつつあり、NASH 病態において単球由来 CCR2 陽性マクロファージが OPN 陽性マクロファージへと分化し、両マクロファージが Hepatic crown-like structure (hCLS) という細胞死に陥った肝細胞を取り囲む構造を形成することで線維化の起点となることを示唆する報告 (Cell Reports. 2021 Jan 12;34(2):108626) がある。単球由来 CCR2 陽性マクロファージが OPN の発現を促進させ、そのマクロファージ内で産生された OPN が CCR2 の発現を減弱化させる作用をもち、CCR2 陽性マクロファージから OPN 陽性マクロファージへと移行するという動態変化が起きて、マクロファージ以外の肝臓の細胞 (肝星細胞、筋線維芽細胞など) に刺激を与え、各細胞からの OPN 発現を誘導し、線維化を進展させているのではないかという可能性が示唆された。NASH の肝線維化促進における OPN の機能、機序を明らかにすることで、肝線維化治療の新たな創薬ターゲットの発見、治療法の開発および創薬研究につながると期待される。

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 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Tan XW, Kobayashi K, Shen L, Inagaki J, Ide M, Hwang SS, Matsuura E.	4. 巻 6
2. 論文標題 Antioxidative attributes of rice bran extracts in ameliorative effects of atherosclerosis-associated risk factors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e05743.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2020.e05743	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 Ohtsuki T, Hatipoglu O.F., Asano K, Inagaki J, Nishida K, Hirohata S	4. 巻 21
2. 論文標題 Induction of CEMIP in Chondrocytes by Inflammatory Cytokines: Underlying Mechanisms and Potential Involvement in Osteoarthritis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 3140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21093140	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 Okawa A, Hayashi M, Inagaki J, Okajima T, Tamura T, Inagaki K.	4. 巻 84
2. 論文標題 Novel method for l-methionine determination using l-methionine decarboxylase and application of the enzyme for l-homocysteine determination.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 927-935
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2020.1715781	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 Okawa A, Shiba T, Hayashi M, Onoue Y, Murota M, Sato D, Inagaki J, Tamura T, Harada S, Inagaki K.	4. 巻 30
2. 論文標題 Structural basis for substrate specificity of l-methionine decarboxylase.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Protein Sci.	6. 最初と最後の頁 663-677
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/pro.4027	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 Ohtsuki T, Shinaoka A, Kumagishi-Shinaoka K, Asano K, Hatipoglu OF, Inagaki J, Takahashi K, Oohashi T, Nishida K, Naruse K, Hirohata S.	4. 巻 383
2. 論文標題 Mechanical strain attenuates cytokine-induced ADAMTS9 expression via transient receptor potential vanilloid type 1.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Exp Cell Res.	6. 最初と最後の頁 111556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yexcr.2019.111556.	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 Hatipoglu OF, Uctepe E, Opoku G, Wake H, Ikemura K, Ohtsuki T, Inagaki J, Gunduz M, Gunduz E, Watanabe S, Nishinaka T, Takahashi H, Hirohata S.	4. 巻 139
2. 論文標題 Osteopontin silencing attenuates bleomycin-induced murine pulmonary fibrosis by regulating epithelial-mesenchymal transition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomed Pharmacother	6. 最初と最後の頁 111633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2021.111633	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 Inagaki J, Nakano A, Hatipoglu OF, Ooka Y, Tani Y, Miki A, Ikemura K, Opoku G, Ando R, Kodama S, Ohtsuki T, Yamaji H, Yamamoto S, Katsuyama E, Watanabe S, Hirohata S.	4. 巻 23
2. 論文標題 Potential of a Novel Chemical Compound Targeting Matrix Metalloprotease-13 for Early Osteoarthritis: An In Vitro Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 2681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23052681	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22件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 兒玉慎太郎、大月孝志、オメル・F・ハティポ-ル、立木美穂、ガブリエル オポク、稲垣純子、西田圭一郎、廣畑 聡
2. 発表標題 軟骨様細胞OUMS-27におけるCEMIP誘導並びに制御機構
3. 学会等名 第52回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takuto Nishimura, Miho Tachiki, Takashi Ohtsuki, Junko Inagaki, Kentaro Ikemura, Shintaro kodama, Satoshi Hirohata.
2. 発表標題 Eosinophil Cationic Protein in Anticancer Drug- induced Cardiotoxicity Model
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Omer Faruk Hatipoglu, Takahashi Hideo, Nishinaka Takashi, Ohtsuki Takashi, Inagaki Junko, Ikemura Kentaro, Hirohata Satoshi
2. 発表標題 MoleculeX siRNA attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis.
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中野 愛梨、稲垣 純子、大月 孝志、兒玉 慎太郎、オメル・F・ハティポ-ル、池村 健太郎、安藤 亮典、畑本 早紀子、立木 美穂、ガブリエル オボク、西田 圭一郎、廣畑 聡
2. 発表標題 変形性関節症に有効な新規化合物の探索
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 兒玉 慎太郎、大月 孝志、オメル・F・ハティポ-ル、池村 健太郎、安藤 亮典、中野 愛梨、畑本 早紀子、立木 美穂、ガブリエル オボク、稲垣 純子、西田 圭一郎、廣畑 聡
2. 発表標題 NF- Bを介したCEMIP発現誘導の解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名	Airi Nakano, Junko Inagaki, Takashi Ohtsuki, Shintaro Kodama, Miho Tachiki, Gabriel Opoku, Omer F. Hatipoglu, Kentaro Ikemura, Ryosuke Ando, Sakiko Hatamoto, Satoshi Hirohata
2. 発表標題	New strategy for osteoarthritis therapy targeting metalloproteinase
3. 学会等名	第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Omer Faruk Hatipoglu, Takashi Ohtsuki, Junko Inagaki, Courtney M Nelson, Timothy J Mead, Takuto Nishimura, Miho Tachiki, Kentaro Ikemura, Chang Lu, Yan Wanyu, Suneel S. Apte, Satoshi Hirohata
2. 発表標題	ADAMTS1 null mice demonstrated omphalocele phenotype Adamts1 was highly expressed in the ventral wall development
3. 学会等名	ゴードンカンファレンス matrix metalloproteinase (国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	西村拓人、立木美穂、池村健太郎、稲垣純子、大月孝志、オメル・ファルク・ハティポール、渡邊彰吾、廣畑 聡
2. 発表標題	抗がん剤心毒性モデルにおけるカチオン性タンパクの心筋保護効果
3. 学会等名	第51回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	オメル ファルク ハティポール、エユブ ウチュテベ、池村 健太郎、グンデゥズ エスラ、グンデゥズ メーメット、Muradiye Acar、西村拓人、立木 美穂、大月 孝志、稲垣 純子、廣畑 聡
2. 発表標題	RNA干渉法による突発性肺線維症に重要な分子のサイレンシング
3. 学会等名	第51回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 中野 長久、乾 博、阪本 龍司、榎原 周平、榎本 俊樹、大桑(林)浩孝、稲垣 純子
2. 発表標題 ニコチンアミドがユーグレナの鞭毛離脱に与える効果と鞭毛の再生
3. 学会等名 酵素・補酵素研究会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村 拓人、Hatipoglu Omer Faruk、大月 孝志、稲垣 純子、立木 美穂、Chang Lu、Yan Wanyu、池村 健太郎、児玉 慎太郎、廣畑 聡
2. 発表標題 抗がん剤心毒性モデルにおける好酸球カチオン性タンパクの心保護効果
3. 学会等名 第14回日本臨床検査学教育学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立木 美穂、Hatipoglu Omer Faruk、大月 孝志、稲垣 純子、西村 拓人、Chang Lu、Yan Wanyu、池村 健太郎、大岡 由佳、廣畑 聡
2. 発表標題 軟骨破壊を制御するmicroRNAの探索
3. 学会等名 第14回日本臨床検査学教育学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兒玉慎太郎、Wanyu Yan、Lu Chang、大月孝志、オメル・ファルク・ハティポール、西村拓人、立木美穂、稲垣純子、山田浩司、古松毅之、西田圭一郎、廣畑 聡
2. 発表標題 軟骨細胞産生エクソソームの軟骨細胞への取り込み機構の解析
3. 学会等名 Brainstorming-2019 at Carillon House
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大月孝志、障子友理、児玉慎太郎、Wanyu Yan, Omer Faruk Hatipoglu, 西村拓人、立木美穂、稲垣純子、伊藤左智夫、片山博志、廣畑 聡
2. 発表標題 A431細胞の上皮間葉転換におけるマトリックス分解酵素の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Omer Faruk Hatipoglu, Ayumi Domoto, Ayaka Hamai, Lu Chang, Takashi Ohtsuki, Junko Inagaki, Takuto Nishimura, Miho Tachiki, Kentaro Ikemura, Satoshi Hirohata
2. 発表標題 DAMTS1 KO mice have tougher skin and altered skin ECM content and structure
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Lu Chang, Omer Faruk Hatipoglu, Takuto Nishimura, Miho Tachiki, Junko Inagaki, Takashi Ohtsuki, Liankun Sun, Satoshi Hirohata
2. 発表標題 Critical role of ADAMTS1 in the development of ventral wall
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wanyu Yan, Shintaro Kodama, Guole Liu, Takashi Ohtsuki, Omer Faruk Hatipoglu, Takuto Nishimura, Miho Tachiki, Junko Inagaki, Hiroshi Yamada, Takayuki Firumatsu, Keiichiro Nishida, Liankun Sun, Satoshi Hirohata
2. 発表標題 IL-1 beta treatment up-regulated CD9 in exosome and chondrocyte
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takuto Nishimura, Miho Tachiki, Takashi Ohtsuki, Junko Inagaki, Kentaro Ikemura, Shintaro kodama, Satoshi Hirohata
2. 発表標題 The Mechanism of Cardioprotective Effect of Eosinophil Cationic Protein in Anticancer Drug- induced Cardiotoxicity Model
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安藤亮典、畑本早紀子、中野愛梨、池村健太郎、兒玉慎太郎、オボク・ガブリエル、山元修成、稲垣純子、今 重之、ハティポール・オメル・ファルク、渡辺彰吾、廣畑 聡
2. 発表標題 非アルコール性脂肪肝炎線維化におけるオステオポンチンの発現
3. 学会等名 第53回日本結合組織学会 学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高下 蓮、兒玉 慎太郎、池村 健太郎、安藤 亮典、中野 愛梨、オボク・ガブリエル、浦木 美能理、稲垣 純子、古松 毅之、廣畑 聡
2. 発表標題 HEK-293由来細胞外分泌小胞の軟骨様細胞OUMS-27への取り込みへの検討
3. 学会等名 第15回日本臨床検査学教育学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 兒玉 慎太郎、池村 健太郎、安藤 亮典、中野 愛梨、Opoku Gabriel、高下 蓮、浦木 美能理、稲垣 純子、古松 毅之、廣畑 聡
2. 発表標題 関節を構成する細胞への細胞外分泌小胞取り込みの検討
3. 学会等名 第8回日本細胞外小胞学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Gabriel Opoku, Kentaro Ikemura, Ryosuke Ando, Airi Nakano, Shintaro Kodama, Ren Takagishi, Minori Uraki, Junko Inagaki, Satoshi Hirohata
2. 発表標題 THE ROLE OF ADAMTS1 IN MICE EMBRYO DEVELOPMENT
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021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	渡辺 彰吾 (Watanabe Shogo) (20548341)	岡山大学・保健学域・准教授 (15301)	
研究分担者	廣畑 聡 (Hirohata Satoshi) (90332791)	岡山大学・保健学域・教授 (15301)	

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