

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16536

研究課題名（和文）ヒト肝臓オルガノイドを用いた、脂肪肝炎を制御する細胞間シグナル機構の解明

研究課題名（英文）Mechanism of intercellular signaling in steatohepatitis using human liver organoids

研究代表者

米山 鷹介（Yoneyama, Yosuke）

東京医科歯科大学・統合研究機構・助教

研究者番号：10748289

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）は、脂肪肝から進行して、マクロファージによる炎症や間葉系細胞による線維化を伴う疾患で、慢性肝不全の最大要因となっている。本研究では、炎症反応や線維化を模倣できるヒトiPS細胞由来の肝臓オルガノイド創出技術を確立した。さらに、このオルガノイドにおける細胞間シグナルを解析することを通じて、NASH線維化の抑制に重要なシグナル分子を見出し、それによって調節される病態機構の一端を細胞・分子レベルで明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、パラクリン因子や細胞間相互作用を加味したヒトNASHにおける肝炎や線維化に関する病態進展の一端が細胞・分子レベルで解明される。将来的に、臨床病態への外挿性が担保されたオルガノイドスクリーニング基盤を通じて、本研究で見出された因子を標的とする治療有効性の高いシース化合物の導出が期待される。ヒトiPS細胞由来オルガノイドモデルを活用することで、環境要因等の交絡因子を排除した形で患者固有の病態再現や治療標的の導出、バイオマーカー開発を進める戦略は、肝臓以外の肺や腎臓などの重要臓器の線維症研究にも大きな波及効果を生み出すと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is the most prevalent cause of chronic liver failure, which is associated with multicellular pathogenesis including macrophage-mediated inflammation and hepatic stellate cell-mediated fibrosis. In this study, we established a novel steatohepatitis model in human iPSC-derived multicellular liver organoids that recapitulate the inflammatory and fibrogenic responses. By using this organoid model, we investigated intercellular signaling, leading to the identification of the potential anti-fibrotic signaling factor and its cellular and molecular mechanisms. This study will delineate the multicellular mechanisms of the signaling pathways alleviating NASH fibrosis, and will contribute to the drug development to attenuate the fibrosis in human NASH.

研究分野：医化学

キーワード：脂肪性肝炎 ヒトiPS細胞 オルガノイド 細胞間シグナル

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の増加を背景に急増している非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) は、脂肪肝から悪化し、肝細胞障害、マクロファージによる炎症、間葉系の星細胞による線維化といった、肝臓を構成する様々な細胞の応答の連鎖を伴う疾患である。NASH は肝硬変や肝がんといった慢性肝不全の重大なリスク要因であるため、治療介入が不可欠だが、未だ有効な治療法はなく、NASH の発症機構の解明は社会的要請の高い研究テーマである。しかしながら、従来の NASH 研究で利用されてきた動物モデルや細胞株モデルはヒト病態と乖離があることが問題となり、細胞・分子レベルのメカニズムには未解明な点が多く残っている。

申請者の所属する研究グループは、ヒト人工多能性幹細胞 (ヒト iPS 細胞) から肝臓に類似した立体器官 (オルガノイド) を生体外で創出する技術を世界に先駆けて確立し、最近、マクロファージや間葉系細胞が組み込まれ、NASH の特徴である脂肪蓄積・炎症・線維化の誘導が可能な多細胞系のヒト肝臓オルガノイドの構築に成功した。さらに、申請者は最近、肝臓オルガノイドに発現する分泌因子を精査する過程で、異なる細胞種間で機能するパラクライン様式の機序を通じて、肝臓オルガノイドにおける NASH 様病態表現型を抑制している特定の分泌因子を見出しつつある。このように、ヒト肝臓オルガノイド技術を基軸として、NASH の病態メカニズムの解析は着実に進んでいるものの、肝細胞・免疫系細胞・星細胞といった異なる細胞種間相互作用やそれらの病態との因果関係、そしてヒト病態との外挿性など十分に理解できていない点も残されている。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト肝臓オルガノイド技術を活用して、細胞間シグナルが NASH 病態を制御するメカニズムの解明を試みる。具体的には、まず、炎症や線維化を再現可能な肝臓オルガノイドをヒト iPS 細胞から創出するための培養技術を確立する。続いて、健常状態と比較して、脂肪性肝炎状態のオルガノイドにおいて変化している分泌因子シグナルとそれによる細胞応答を 1 細胞レベルで明らかにすることを通じて、NASH の進展に寄与するパラクライン因子を特定する。そして、特定したシグナル因子の受容体に先天的に機能喪失変異を有する患者 (糖尿病等の重篤な代謝異常を呈する) 由来 iPS 細胞を用いて、細胞間シグナルと NASH 病態との間の因果関係を明らかにする。これらの研究成果をもとに、NASH 患者レベルでの細胞間シグナル異常の理解や、治療薬・バイオマーカー開発を行う研究へと発展を目指す。

3. 研究の方法

(1) ヒト iPS 細胞から肝臓オルガノイドへの分化誘導法

ヒト iPS 細胞に Activin A、BMP4、ウシ胎児血清を処理することにより、胚体内胚葉細胞を誘導する。その後、Wnt アゴニスト、FGF4、BMP 経路阻害剤を添加することにより、後方前腸スフェロイドを誘導する。得られた後方前腸スフェロイドを Matrigel へ包埋し、レチノイン酸を含む培地で培養した後、HGF、OSM、デキサメタゾンを追加した肝細胞培養用培地で培養することで、肝細胞分化を促進し、非実質細胞を含む肝臓オルガノイドを構築する。

(2) ヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドへの遊離脂肪酸負荷と炎症・線維化状態の解析

構築したヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドを脂肪性肝炎状態へ誘導するために、遊離脂肪酸の添加手法を検討する。遊離脂肪酸の添加濃度依存的な炎症・線維化応答のため、定量 PCR 解析により炎症性サイトカイン mRNA 発現を、コラーゲン等の免疫染色によって線維化の組織学的評価を行う。

(3) ヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドのシングルセル RNA-seq 解析

肝臓オルガノイドを酵素処理によって単一細胞化した後、合計約 20,000 細胞から 10X Genomics Chromium プラットフォームを用いて、シングルセル RNA-seq ライブラリを作成する。ライブラリのシーケンスデータを取得した後、Cell Ranger パイプラインによってリードプロセッシングを実施する。細胞/遺伝子のフィルタリング、データ統合、スケールリング、クラスタリング、およびデータ可視化は Seurat を用いて行う。

4. 研究成果

(1) 多細胞系のヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドの創出手法の確立

肝臓の主要な構成細胞である上皮系の肝細胞に加えて、クッパー細胞や肝星細胞などの、複数種類の細胞を同時に分化させる手法をとった。すなわち、前腸内胚葉の形成や、マクロファージ・肝星細胞の分化に重要とされるレチノイン酸シグナルに着目し、オルガノイドの形成初期にレチノイン酸を一過的に導入することで、複数系譜の細胞を同時に分化誘導する手法を確立した。各細胞種マーカーの発現解析の結果、構築されたオルガノイドには肝細胞に加えて、クッパー細胞や肝星細胞に類似した細胞群が含まれていることが明らかとなった。さらに、シングルセル RNA-seq 解析の結果からも、本オルガノイドにおける肝臓特異的な多細胞系譜の存在が裏付けられた。また、公開されているヒト肝臓のシングルセル RNA-seq データ (MacParland et al., *Nat Commun* 2018) との統合解析により、本オルガノイドには成体肝臓における肝細胞・肝星細胞・血管内皮細胞・胆管細胞に類似した細胞種が存在していることが判明した (Ouchi et al., *Cell Metab* 2019; Shinozawa et al., *Gastroenterol* 2021)。

次に、ヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドの機能的構造の発達を評価するために、電子顕微鏡による形態学的解析を行なった。その結果、肝細胞どうしの間には特徴的な上皮極性化を通じて、胆汁を胆管へ運搬するための毛細胆管が形成されていることを見出した (Shinozawa et al., *Gastroenterol* 2021)。また、肝星細胞には、その特徴であるビタミン A 貯蔵脂肪滴を内包し、コラーゲン分泌能を有していること、肝細胞の周囲には形態的にクッパー細胞や血管内皮細胞に類似した細胞の存在が認められることを明らかにした (Yoneyama, 投稿準備中)。これらの結果ら、本手法で創出されるヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドは、免疫系細胞や間葉系細胞などの非実質細胞が含まれた多細胞系譜の肝臓オルガノイドであると考えられた。

(2) ヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドにおける脂肪性肝炎・線維化の誘導手法の構築

次に、NASH の特徴である脂質蓄積を起点とした炎症や線維化を誘導するための肝臓オルガノイドの培養条件を、遊離脂肪酸を中心に検討した。その結果、オレイン酸の添加により、肝臓オルガノイド中に脂肪滴・トリグリセリドが顕著に蓄積し、その後、TNF- α や IL-8 などの炎症性サイトカインの発現が上昇することを見出した (Ouchi et al., *Cell Metab* 2019)。さらに、オレイン酸を添加して 1-2 週間後には、間質領域への I 型コラーゲン陽性線維の蓄積・沈着が認められたことから (Yoneyama, 投稿準備中)、*in vitro* において NASH の病態に重要な炎症および線維化を経時的にヒト肝臓オルガノイドに誘導可能であることが示された。

(3) NASH 肝臓オルガノイドモデルにおける線維化関連パラクリン因子の探索と機序解析

NASH における細胞間シグナルの変化を明らかにすることを目的として、ヒト iPS 細胞由来肝

臓オルガノイドに発現する分泌因子のうち、オレイン酸処理特異的に変動する因子を定量 PCR 発現解析によってスクリーニングした。その結果、肝細胞から分泌されるパラクライン因子 X がオレイン酸の処理によって顕著に減少することを見出した。さらに、リコンビナント X を上述の脂肪性肝炎オルガノイドモデルに添加すると、線維化が顕著に抑制されることが明らかとなった。X の有する抗線維化作用のメカニズムを明らかにするために、X で処理した脂肪性肝炎オルガノイドのシングルセル RNA-seq 解析を実施した。特に、肝星細胞に類似した細胞群に対して、既知の肝星細胞マーカーの発現プロファイルをもとにサブクラスタの解析を進めた結果、複数の肝星細胞サブクラスタのうち、特定の生理活性ペプチドを発現する 1 つのサブクラスタにおいて、脂肪性肝炎刺激やパラクライン因子に応答した線維化関連遺伝子発現変動が顕著に認められた。さらに、この肝星細胞サブクラスタがパラクライン因子にどのように応答しているかを精査したところ、Wnt シグナルや脂質メディエーター産生の変化を介して、パラクライン因子が肝星細胞の活性化を抑制するという作業仮説を立てるに至った (Yoneyama, 投稿準備中)。

パラクライン因子 X の線維化に対する因果関係を精査するために、先天的に X の受容体に機能喪失変異を生じた患者 (糖尿病等の重篤な代謝異常を呈する) に由来する iPS 細胞を入手し、肝臓オルガノイドへの分化誘導プロトコルを最適化した。現在、これらの iPS 細胞由来オルガノイドに対して、遊離脂肪酸を刺激した際の線維化応答について、解析を進行中である。

(4) NASH 患者における肝臓内細胞間相互作用因子の変動と病勢の相関解析

病勢の明らかな NASH 患者血液サンプルを用いて、上述で特定したパラクライン因子 X について、その血中安定性を制御する結合分子も含めて、それらの血中レベルの変動を解析した。その結果、X の特定の結合分子 (X-BP) が肝線維化の進行に従って減少し、早期線維化段階でも有意に減少すること、特に活動性 NASH というリスクの高い病態に対して、既存の血中マーカーよりも優れた感度・精度を持って X-BP がバイオマーカーとして活用可能であることを見出した (特許出願)。

以上を含む一連の結果から、NASH 患者では X-BP の減少を起点として肝臓内での X シグナルが特に肝星細胞で減弱することを通じて線維化が進行する、という NASH 線維化における新規パラクライン作用機序が存在すると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tadahiro Shinozawa, Masaki Kimura, Yuqi Cai, Norikazu Saiki, Yosuke Yoneyama, Rie Ouchi, Hiroyuki Koike, Mari Maezawa, Ran-Ran Zhang, Andrew Dunn, Autumn Ferguson, Shodai Togo, Kyle Lewis, Wendy L Thompson, Akihiro Asai, Takanori Takebe	4. 巻 160
2. 論文標題 High-Fidelity Drug-Induced Liver Injury Screen Using Human Pluripotent Stem Cell-Derived Organoids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 831 ~ 846.e10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2020.10.002	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 該当する

1. 著者名 Naritaka Kobayashi, Shodai Togo, Takahisa Matsuzaki, Kaede Hashiseko, Ryuzo Kawamura, Masami Suganuma, Seiichiro Nakabayashi, Yosuke Yoneyama, Rie Ouchi, Takanori Takebe, Hiroshi Y. Yoshikawa	4. 巻 13
2. 論文標題 Stiffness distribution analysis in indentation depth direction reveals clear mechanical features of cells and organoids by using AFM	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 9
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 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 Okino Ryosuke, Usui Ami, Yoneyama Yosuke, Takahashi Shin-Ichiro, Hakuno Fumihiko	4. 巻 11
2. 論文標題 Myoblasts With Higher IRS-1 Levels Are Eliminated From the Normal Cell Layer During Differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2020.00096	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 Ouchi Rie, Togo Shodai, Kimura Masaki, Shinozawa Tadahiro, Koido Masaru, Koike Hiroyuki, Thompson Wendy, Karns Rebekah A., Mayhew Christopher N., McGrath Patrick S., McCauley Heather A., Zhang Ran-Ran, Lewis Kyle, Hakozaiki Shoyo, Ferguson Autumn, Saiki Norikazu, Yoneyama Yosuke, Takebe Takanori, et al.	4. 巻 30
2. 論文標題 Modeling Steatohepatitis in Humans with Pluripotent Stem Cell-Derived Organoids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Metabolism	6. 最初と最後の頁 374 ~ 384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmet.2019.05.007	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 該当する

1. 著者名 Yuna Naraoka, Yo Mabuchi, Yosuke Yoneyama, Eriko Grace Suto, Daisuke Hisamatsu, Mami Ikeda, Risa Ito, Tetsuya Nakamura, Takanori Takebe, Chihiro Akazawa	4. 巻 10
2. 論文標題 Isolation and Characterization of Tissue Resident CD29-Positive Progenitor Cells in Livestock to Generate a Three-Dimensional Meat Bud	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10092499.	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 Takafumi Miyamoto, Hideki Uosaki, Yuhei Mizunoe, Song-lee Han, Sato Goto, Daisuke Yamanaka, Masato Masuda, Yosuke Yoneyama, Hideki Nakamura, Naoko Hattori, Yoshinori Takeuchi, Hiroshi Ohno, Motohiro Sekiya, Takashi Matsuzaka, Fumihiko Hakuno, Shin-Ichiro Takahashi, Naoya Yahagi, Koichi Ito, Hitoshi Shimano	4. 巻 1
2. 論文標題 Rapid manipulation of mitochondrial morphology in a living cell with iCMM	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports Methods	6. 最初と最後の頁 100052
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crmeth.2021.100052.	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 Ryo Okabe, Toyofumi F Chen-Yoshikawa, Yosuke Yoneyama, Yuhei Yokoyama, Satona Tanaka, Akihiko Yoshizawa, Wendy L Thompson, Gokul Kannan, Eiji Kobayashi, Hiroshi Date, Takanori Takebe	4. 巻 2
2. 論文標題 Mammalian enteral ventilation ameliorates respiratory failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Med	6. 最初と最後の頁 773 ~ 783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.medj.2021.04.004.	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 Yosuke Yoneyama, Ryo Okabe, Takanori Takebe	4. 巻 3
2. 論文標題 Enteral ventilation technology to combat severe respiratory failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational and Regulatory Sciences	6. 最初と最後の頁 93 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.33611/trs.2021-015	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10件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 米山鷹介
2. 発表標題 ヒト肝臓オルガノイドによるマイ・メディシン
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米山鷹介
2. 発表標題 消化器臓器のヒューマンオルガノイドにおけるマルチスケールイメージング
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米山鷹介、武部貴則
2. 発表標題 ヒューマンオルガノイド技術による脂肪性肝炎病態の再現と工学的手法による新規線維化評価系の構築
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yosuke Yoneyama, Ran-Ran Zhang, Masaki Kimura, Takanori Takebe
2. 発表標題 INTERCELLULAR RNA TRANSFER-DRIVEN EPIGENETIC REPROGRAMMING OF HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS INTO NAIVE-LIKE STATE
3. 学会等名 ISSCR 2019 Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	Sakurako Kobayashi, Satoshi Watanabe, Yosuke Yoneyama, Kousuke Tanimoto, Ryu Nishimura, Sayaka Nagata, Masami Inoue, Kouhei Suzuki, Kiichiro Tsuchiya, Ryuichi Okamoto, Mamoru Watanabe, Takanori Takebe, Shiro Yui
2. 発表標題	Conceptual basis of lineage shift between intestinal epithelium and hepatocytes
3. 学会等名	Keystone Symposia on Tissue Organoids as Models of Host Physiology and Pathophysiology of Disease (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	米山鷹介
2. 発表標題	マイクロデバイスによるヒューマン・オルガノイドの機能拡張
3. 学会等名	第19回日本再生医療学会総会 (招待講演)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Yosuke Yoneyama, Takanori Takebe
2. 発表標題	INTERCELLULAR RNA TRANSFER-DRIVEN REPROGRAMMING OF HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS INTO NAIVE-LIKE STATE
3. 学会等名	ISSCR Tokyo 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Yosuke Yoneyama
2. 発表標題	Human Pluripotent Stem Cell-Derived Liver Organoid Manufacturing
3. 学会等名	Olympus Discovery Summit: Advanced Your Imaging (招待講演) (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名 Yosuke Yoneyama
2. 発表標題 Live-cell incubation monitoring and human organoid manufacturing for modeling liver diseases
3. 学会等名 2021 ZISCTI-CSCT Annual Meeting, Satellite Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 張カン春、米山鷹介、大津香苗、三好正人、北畑富貴子、新田沙由梨、赤星径一、田邊稔、柿沼晴、朝比奈靖浩、武部貴則
2. 発表標題 ヒト肝臓プライマリオルガノイドからのiPS細胞樹立と肝疾患研究への応用
3. 学会等名 第21回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 高山真秀、米山鷹介、武部貴則	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 7
3. 書名 臨床応用をめざすヒューマンオルガノイド研究	

1. 著者名 米山鷹介	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 7
3. 書名 ヒト内胚葉オルガノイド研究の最新動向	

1. 著者名 岡部亮、米山鷹介、武部貴則	4. 発行年 2021年
2. 出版社 科学論評社	5. 総ページ数 8
3. 書名 腸呼吸技術（EVA法）を用いたCOVID-19関連重症呼吸器合併症治療の可能性	

1. 著者名 別冊B10 Clinica 慢性炎症と疾患 適応&修復のサイエンスと臨床応用の最前線「オルガノイドを活用した医科学研究」	4. 発行年 2019年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 6
3. 書名 米山鷹介、武部貴則	

1. 著者名 実験医学別冊 決定版オルガノイド実験スタンダード「多細胞系からなるヒト肝オルガノイドの創出」	4. 発行年 2019年
2. 出版社 大内梨江、米山鷹介、武部貴則	5. 総ページ数 7
3. 書名 羊土社	

1. 著者名 米山鷹介、武部貴則	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本メディカルセンター	5. 総ページ数 8
3. 書名 肝不全・肝硬変に対する再生療法 - 最先端の今 「オルガノイド研究の最先端」	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 呼吸不全等による低酸素状態の対象を処置することに用いる医薬組成物	発明者 武部貴則、米山鷹介、岡部亮、芳川豊史、伊達洋至	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020-84395	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 非アルコール性脂肪性肝炎の線維化進行度を推定する方法	発明者 武部貴則、米山鷹介	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2021-129760	出願年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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