

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07506

研究課題名（和文）HUS症例由来Escherichia albertiiにおける病原性遺伝子の解析

研究課題名（英文）Analysis of virulence genes in Escherichia albertii from HUS cases.

研究代表者

伊豫田 淳（Iyoda, Sunao）

国立感染症研究所・細菌第一部・室長

研究者番号：70300928

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：溶血性尿毒症症候群を発症した患者から我々が分離した志賀毒素産生性の Escherichia albertii (EA) はEHECと同様、宿主細胞への強固な接着に必要な病原性遺伝子群であるLEEを保有する。LEEの重要な発現制御因子として我々が腸管出血性大腸菌（EHEC）において以前に同定したpch遺伝子群（pchA-E）のうち、上記のEA株にはpchBおよび新規のpchであるpchFが存在した。両者はいずれもEAにおけるLEE遺伝子発現に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

EHEC感染による重症例である溶血性尿毒症症候群（HUS）を発症する年齢は10歳までの小児に最も多い。EHECと近縁であるが大腸菌とは異なる種に分類されるEscherichia albertii (EA) は、これまでHUSを発症したケースは報告されていなかった。我々はHUS発症患者から志賀毒素産生性のEAを分離同定し、その病原性に重要と考えられる細胞接着性にかかわる遺伝子群LEEの発現に必須な遺伝子を同定した。本研究の成果はEHECおよびEAが保有する病原性遺伝子群の発現制御機構の解明に向けた重要な知見となり、EAの病原性を理解する上で重要な知見になるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Shiga toxin-producing Escherichia albertii (EA), which we isolated from a patient with haemolytic uraemic syndrome, harbour LEE, a group of virulence genes required for intimate adhesion to host cells. As important regulators of LEE expression in enterohemorrhagic E. coli (EHEC), we previously identified the pch gene cluster (pchA-E). This study shows that pchB and a novel pch, pchF, both play important roles in LEE gene expression in EA, with pchF being the most important regulator of LEE expression in EA.

研究分野：細菌学

キーワード：E. albertii pch 発現制御

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) 感染によって感染者の 60-70% は激しい腹痛、下痢、出血性大腸炎を発症し、有症者の 5-7% は重症例である溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) へ移行する。中でも HUS は 10 歳までの小児に高頻度で発生し、HUS 発症者の 30-40% は長期間にわたる高血圧、腎臓疾患等の予後不良となることが知られている。HUS の発症は EHEC 感染によるものが最も多いが、大腸菌以外の細菌感染によっても HUS 発症例が報告されている。大腸菌と近縁であるが異なる細菌種に分類される *Escherichia albertii* (EA) は新規の下痢原性細菌として同定されているが、これまで HUS 発症例は報告されてこなかった。我々は HUS 患者便から志賀毒素産生性の EA を初めて分離し、その病原性の解明に着手した。多くの EHEC と同様、EA は宿主細胞への強固な接着に必要な病原性遺伝子群である locus of enterocyte effacement (LEE) を保有する。EHEC における LEE の重要な発現制御因子として、これまでの我々の研究から、LEE 領域外のプロファージゲノム上にコードされる遺伝子として *pchA-E* を同定し、このうち PchA-C が LEE の発現活性化因子であることを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

EHEC 同様、EA も LEE を保有することから、宿主細胞の接着には LEE 遺伝子群の機能発現が必須であるものと考えられた。そこで、EA における LEE 遺伝子群の役割について明らかにするために LEE 遺伝子群の発現制御機構を解明することを目的とした。HUS 患者から分離された EA のゲノム解析から保有する病原性遺伝子のプロファイリングを実施すると共に、保有する病原性遺伝子の機能解析を進めることを目的とした。併せて、HUS 患者由来の EA 株の病原性を解析するため、当該株が保有する Stx2f の発現制御についても遺伝学的な解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

1) EA の遺伝子破壊法の確立

HUS 患者由来の EA 株およびその他の EA 数株を用いた解析から、EHEC を含む大腸菌で使用出来る遺伝子破壊法 (Lambda Red recombination 法) が EA では効率よく働かないことが明らかになった。そこでまず、既存の手法について、DNase I インヒビターの添加や培養条件およびアラビノース誘導法について条件検討を実施したが、従来法ではやはり遺伝子破壊がほとんど起こらないことが明らかとなった。そこで、効率よく遺伝子破壊株を構築するその他の系を選択することにした。

2) HUS 由来 EA 株のゲノム解析による *pch* 遺伝子の同定

HUS 由来 EA 株のゲノム解析を常法に従って実施した。ゲノム DNA ライブラリーは Nextera XT DNA Sample Prep Kit (Illumina) を用いて調製した。プールしたライブラリーは、MiSeq (Illumina) を用いてマルチプレックスペアエンドシーケンス (300-mer×2) を行った。ショートリードは SPAdes v.3.13.0 を用いてアセンブルした (研究協力者である国立感染症研究所・細菌第一部の李謙一が実施した)。

3) *pch* 遺伝子の機能解析

2) で見出された *pch* 遺伝子について 1) で確立した遺伝子破壊法を用いて遺伝子破壊を行うと共に、各種発現ベクターを用いて大量発現あるいはアラビノース等による誘導発現を行い、遺伝子の機能解析を行った。

4. 研究成果

1) EA の遺伝子破壊法の確立

EHEC では大腸菌実験室株を用いた系で確立されたオリジナルの Lambda Red recombination 法による遺伝子破壊法が有効である一方、EA 株では組換え効率が極めて低く、遺伝子によっては破壊株が構築できないことが明らかとなった。そこで、いくつかの手法を試したところ、Gene . 2006 Sep 1;379:109-15. doi: 10.1016/j.gene.2006.04.018. に記述されている手法で遺伝子破壊が効率よく実施できることを見出した。

2) HUS 由来 EA 株のゲノム解析による *pch* 遺伝子の同定

HUS 由来 EA 株のゲノム解析を常法に従って実施したところ、当該株には EHEC で見出されている *pch* 遺伝子のうち、*pchB* が存在することが明らかとなった。加えて、EHEC で見出された *pchA-E* とは大きくアミノ酸配列が異なるが Pch をコードしていると考えられる新規の *pch* 遺伝子が存在することが明らかとなったため、この遺伝子のアミノ酸配列を用いた系統解析を行ったところ、PchA-E とは異なる遺伝系統であることが判明したためこの遺伝子を *pchF* と命名した。この他、EHEC で見出されている PchA-E のうち、PchE をコードする遺伝子がゲノム上に 2 コピー存在することも明らかとなった。すなわち、HUS 患者由来の EA 株には PchB、PchE および PchF をコードする遺伝子が存在した。

3) *pch* 遺伝子の機能解析

1) で記載の遺伝子破壊法を用いて 2) の解析から見出した *pchB* および *pchF* の破壊株を構築して LEE の遺伝子発現レベルを 3 型分泌蛋白質 (EspBAD) の発現量で測定したところ、いずれの遺伝子破壊株でも LEE の発現が顕著に低下することが見出された。この遺伝子破壊株を低コピーベクターにそれぞれクローニングして各破壊株に導入したところ、*pchB* および *pchF* のいずれの破壊株も *pchB* および *pchF* のいずれの遺伝子によっても相補されることが明らかとなった。さらに、これらの遺伝子をアラビノース誘導型ベクターにクローニングしたところ、培地中のアラビノース量に比例して EspBAD の発現が上昇することが見出された。以上の結果から、*pchB* および *pchF* は EHEC における PchA と同様 EA 株において LEE 遺伝子発現に必須の遺伝子であることが明らかとなった。EHEC では PchA-E のうち、PchABC が Pch として機能しており、PchD および PchE は LEE 遺伝子発現制御因子としては機能していないことが判明している。そこで、EA 株で見出された *pchE* についてマルチコピーベクターにクローニングして LEE への発現の影響を確認したが、LEE 遺伝子発現への影響は確認されなかった。従って、PchE は EA においても LEE 遺伝子発現制御には関与していないことが明らかとなった。

4) HUS 患者由来 EA 株が保有する *Stx2f* の発現制御の解析

Stx2f は他の *stx* 遺伝子同様ラムダ型ファージ上にコードされている。EHEC ではマイトマイシン (MMC) 等の誘導剤存在下で *stx* ファージの溶菌サイクルへの移行が進み、そのタイミングで *Stx* の大量発現が起こる。そこで、HUS 患者由来の EA 株で同様な現象が起こるかどうか確認したが、当該 EA 株では MMC 存在下においても *Stx2f* の誘導発現が起こらないことが明らかとなった。そこで、大腸菌実験室株 (K-12 株) と混合培養を行ったところ、EA の *stx2f* ファージが K-12 株へ溶原化した株が得られた。さらに、分離された *stx2f* 溶原株では MMC の添加によって溶菌サイクルへの移行が進み、大量の *Stx2f* が発現することが明らかとなった。K-12 株上の *Stx2f* ファージゲノム配列を EA 株上のものと比較したところ、塩基置換は存在しなかった。以上の結果から、*Stx2f* ファージの溶菌サイクルへの移行は EA と K-12 株のバックグラウンドの違いによるものであることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Nakamura Keiji, Seto Kazuko, Lee Kenichi, Ooka Tadasuke, Gotoh Yasuhiro, Taniguchi Itsuki, Ogura Yoshitoshi, Mainil Jacques Georges, Pi?rard Denis, Harada Tetsuya, Etoh Yoshiki, Ueda Saori, Hamasaki Mitsuhiro, Isobe Junko, Kimata Keiko, Narimatsu Hiroshi, Yatsuyanagi Jun, Ohnishi Makoto, Iyoda Sunao, Hayashi Tetsuya	4. 巻 9
2. 論文標題 Global population structure, genomic diversity and carbohydrate fermentation characteristics of clonal complex 119 (CC119), an understudied Shiga toxin-producing E. coli (STEC) lineage including O165:H25 and O172:H25	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbial Genomics	6. 最初と最後の頁 mgen000959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/mgen.0.000959	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 Miyata Tatsuya, Taniguchi Itsuki, Nakamura Keiji, Gotoh Yasuhiro, Yoshimura Dai, Itoh Takehiko, Hirai Shinichiro, Yokoyama Eiji, Ohnishi Makoto, Iyoda Sunao, Ogura Yoshitoshi, Hayashi Tetsuya	4. 巻 9
2. 論文標題 Alteration of a Shiga toxin-encoding phage associated with a change in toxin production level and disease severity in Escherichia coli	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbial Genomics	6. 最初と最後の頁 mgen000935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/mgen.0.000935	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 Harada Tetsuya, Wakabayashi Yuki, Seto Kazuko, Lee Kenichi, Iyoda Sunao, Kawatsu Kentaro	4. 巻 105
2. 論文標題 Real-time PCR assays to detect 10 Shiga toxin subtype (Stx1a, Stx1c, Stx1d, Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, and Stx2g) genes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Diagnostic Microbiology and Infectious Disease	6. 最初と最後の頁 115874 ~ 115874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diagmicrobio.2022.115874	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 Ogawa Ayano, Kojima Fumika, Miyake Yukari, Yoshimura Miho, Ishijima Nozomi, Iyoda Sunao, Sekine Yasuhiko, Yamanaka Yuki, Yamamoto Kaneyoshi	4. 巻 27
2. 論文標題 Regulation of constant cell elongation and Sfm pili synthesis in <i>Escherichia coli</i> via two active forms of <i>FimZ</i> response regulator	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 657 ~ 674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12982	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 Sato Ryosuke, Yahata Yuichiro, Taira Hiroyuki, Saito Tetsuya, Ishii Teruyuki, Yamazaki Satoru, Yamamoto Kazunari, Kikuchi Ryoko, Izumiya Hidemasa, Iyoda Sunao, Ohnishi Makoto, Takahashi Yoshiki	4. 巻 19
2. 論文標題 Multijurisdictional Outbreak of Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157 Caused by Consumption of Ready-to-Eat Grilled Skewered Meat in Niigata, Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Foodborne Pathogens and Disease	6. 最初と最後の頁 400 ~ 407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/fpd.2021.0083	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 Tsutsuki Hiroyasu, Zhang Tianli, Yahiro Kinnohiko, Ono Katsuhiko, Fujiwara Yukio, Iyoda Sunao, Wei Fan-Yan, Monde Kazuaki, Seto Kazuko, Ohnishi Makoto, Oshiumi Hiroyuki, Akaike Takaaki, Sawa Tomohiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Subtilase cytotoxin from Shiga-toxigenic <i>Escherichia coli</i> impairs the inflammasome and exacerbates enteropathogenic bacterial infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104050 ~ 104050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104050	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 Nishida Ruriko et al.	4. 巻 7
2. 論文標題 The global population structure and evolutionary history of the acquisition of major virulence factor-encoding genetic elements in Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> O121:H19	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbial Genomics	6. 最初と最後の頁 716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/mgen.0.000716	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 Yahiro Kinnosuke, Ogura Kohei, Tsutsuki Hiroyasu, Iyoda Sunao, Ohnishi Makoto, Moss Joel	4. 巻 7
2. 論文標題 A novel endoplasmic stress mediator, Kelch domain containing 7B (KLHDC7B), increased Harakiri (HRK) in the SubAB-induced apoptosis signaling pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Death Discovery	6. 最初と最後の頁 360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41420-021-00753-0	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 Kashima K., Sato M., Osaka Y., Sakakida N., Kando S., Ohtsuka K., Doi R., Chiba Y., Takase S., Fujiwara A., Shimada S., Ishii R., Mizokoshi A., Takano M., Lee K., Iyoda S., Honda A.	4. 巻 149
2. 論文標題 An outbreak of food poisoning due to <i>Escherichia coli</i> serotype O7:H4 carrying <i>astA</i> for enteroaggregative <i>E. coli</i> heat-stable enterotoxin1 (EAST1)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Epidemiology and Infection	6. 最初と最後の頁 e244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S0950268821002338	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 Tsunoi Manami, Iyoda Sunao, Iwase Tadayuki	4. 巻 131
2. 論文標題 Collateral effects of deletion of nlpD on rpoS and rpoS-dependent genes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 e152693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI152693	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 Yamamoto Shouji, Iyoda Sunao, Ohnishi Makoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Stabilizing Genetically Unstable Simple Sequence Repeats in the <i>Campylobacter jejuni</i> Genome by Multiplex Genome Editing: a Reliable Approach for Delineating Multiple Phase-Variable Genes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 mBio	6. 最初と最後の頁 e0140121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mBio.01401-21	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 Sudo Naoki, Lee Kenichi, Sekine Yasuhiko, Ohnishi Makoto, Iyoda Sunao	4. 巻 117
2. 論文標題 RNA binding protein Hfq downregulates locus of enterocyte effacement encoded regulators independent of small regulatory RNA in enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Microbiology	6. 最初と最後の頁 86 ~ 101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mmi.14799	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 Nguyen Thi Thu Huong, Kikuchi Taisei, Tokunaga Tadaaki, Iyoda Sunao, Iguchi Atsushi	4. 巻 12
2. 論文標題 Diversity of the Tellurite Resistance Gene Operon in <i>Escherichia coli</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 681175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2021.681175	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 Lee Kenichi, Iguchi Atsushi, Uda Kazuhiro, Matsumura Sohshi, Miyairi Isao, Ishikura Kenji, Ohnishi Makoto, Seto Junji, Ishikawa Kanako, Konishi Noriko, Obata Hiromi, Furukawa Ichiro, Nagaoka Hiromi, Morinushi Hirotaka, Hama Natsuki, Nomoto Ryohei, Nakajima Hiroshi, Kariya Hideaki, Hamasaki Mitsuhiro, Iyoda Sunao	4. 巻 27
2. 論文標題 Whole-Genome Sequencing of Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> OX18 from a Fatal Hemolytic Uremic Syndrome Case	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Emerging Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 1509 ~ 1512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3201/eid2705.204162	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 Nguyen Thi Thu Huong, Iguchi Atsushi, Ohata Ritsuko, Kawai Hisahiro, Ooka Tadasuke, Nakajima Hiroshi, Iyoda Sunao	4. 巻 59
2. 論文標題 Distribution of Novel Og Types in Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> Isolated from Healthy Cattle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Microbiology	6. 最初と最後の頁 e02624-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JCM.02624-20	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 Yahiro Kinnosuke, Ogura Kohei, Goto Yoshiyuki, Iyoda Sunao, Kobayashi Tatsuya, Takeuchi Hiroki, Ohnishi Makoto, Moss Joel	4. 巻 10
2. 論文標題 Subtilase cytotoxin induces a novel form of Lipocalin 2, which promotes Shiga-toxigenic Escherichia coli survival	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18943
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-76027-z	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 Iguchi Atsushi, Nishii Hironobu, Seto Kazuko, Mitobe Jiro, Lee Kenichi, Konishi Noriko, Obata Hiromi, Kikuchi Taisei, Iyoda Sunao	4. 巻 58
2. 論文標題 Additional Oq-Typing PCR Techniques Targeting Escherichia coli-Novel and Shigella-Unique O-Antigen Biosynthesis Gene Clusters	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Microbiology	6. 最初と最後の頁 e01493-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JCM.01493-20	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 Kimata Keiko, Lee Kenichi, Watahiki Masanori, Isobe Junko, Ohnishi Makoto, Iyoda Sunao	4. 巻 10
2. 論文標題 Global distribution of epidemic-related Shiga toxin 2 encoding phages among enteroaggregative Escherichia coli	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-68462-9	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 Izumiya Hidemasa, Lee Kenichi, Ishijima Nozomi, Iyoda Sunao, Ohnishi Makoto	4. 巻 73
2. 論文標題 Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Scheme for Non-O157 Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> : Focus on Serogroups O103, O121, O145, O165, and O91	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 481 ~ 490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2020.095	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7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊豫田 淳, 李 謙一
2. 発表標題 重症例由来腸管出血性大腸菌の細菌学的特徴について
3. 学会等名 第 96 回日本細菌学会総会 シンポジウム S5 食中毒研究の最前線（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 検査・診断マニュアル https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/EHEC20210907.pdf

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