

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09933

研究課題名(和文) WNT・メカノシグナルによる歯根膜幹細胞エクソソームの最適化と歯周組織再生制御

研究課題名(英文) Optimization of PDL cell-derived exosome by WNT/mechano signals and regulation of periodontal tissue regeneration

研究代表者

根本 英二 (Nemoto, Eiji)

東北大学・歯学研究科・准教授

研究者番号：40292221

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)：歯周病で破壊された歯周組織を健康な状態に戻すには、歯根と歯ぐきの間でできた深い溝(歯周ポケット)をなくし、両者を強固に結合させることが必要である。その重要な役割をもつセメント質の形成に有効に作用する物質を見出すことを目的としている。本研究では、エクソソームという生体由来の因子にセメント質の形成を誘導する作用があることを検証したところ、このエクソソームには歯周組織を一定の状態に維持しようとする活性があることが確認された。これらの成果は歯周組織再生理論の進展につながるものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯ぐきの内側にある歯根膜という組織には幹細胞が存在することが明らかとされている。これまでこの細胞の増殖と分化の制御に基づいた歯周組織再生療法が開発され、現在すでに臨床に広く用いられている。しかしながら、未だ制限された適応症例や十分とはいえない予知性などの多くの問題点が残されている。本研究は、ヒトの生体由来の因子であるエクソソームという物質に焦点を当てて解析を行ったところ、歯周組織の恒常性の維持、すなわち歯ぐきの健康を常に維持しようとする活性を同エクソソームに見出したものであり、今後の歯周組織再生理論の進展につながるものである。

研究成果の概要(英文)：To restore healthy periodontal tissues destroyed by periodontal disease, it is necessary to eliminate the deep grooves (periodontal pockets) that have formed between the root and the gums and to firmly bind them together. The aim is to find a substance that effectively acts on the formation of cementum, which has its important role. In this study, we examined the ability of exosomes, a biogenic factor, to induce the formation of cementum, confirming that these exosomes have the ability to maintain periodontal tissue in a constant state. These results will lead to the development of periodontal tissue regeneration therapy.

研究分野：歯周病学

キーワード：エクソソーム セメント芽細胞 歯根膜細胞 破骨細胞

1. 研究開始当初の背景

歯周組織再生療法は、間葉系幹細胞を歯周組織欠損部に補充する細胞療法 (Cell-based therapy) や歯根膜に内在する歯根膜幹細胞をターゲットとし成長因子を用いたサイトカイン療法などの研究開発が進んでいる。特に、細胞療法は大きな歯周組織欠損に対して有効であり、その高い再生効果は、国内外で広く認識されている。しかしながら、細胞療法の実用化には幹細胞採取における生体侵襲、幹細胞の品質管理に対する費用対効果など解決すべき課題が多く残されている。

最近、細胞療法による治療効果は、補充した幹細胞から分泌されるパラクライン因子がその本体であるというエビデンスが広く受け入れられている。なかでもエクソソームと呼ばれる膜小胞が着目されている。これまでに骨髄や脂肪組織由来間葉系幹細胞から抽出されたエクソソームは、骨の再生に大きな効力を発揮することから、新たな治療法への利用が期待されている。一方、エクソソームに内包されている情報伝達物質のプロファイルは、細胞の由来する組織によって異なることが知られていることから、歯周組織の修復・再生を考えた場合、歯根膜幹細胞エクソソームは、骨髄や脂肪組織幹細胞のそれを越えるポテンシャルを有するものと推測できる。しかしながら、歯根膜由来幹細胞からエクソソームの分泌を示す報告を始め、同細胞からのエクソソームを用いた研究報告は非常に限られていた。

われわれのこれまでの一連の研究で歯根膜由来細胞にメカニカルシグナルを与えることによりエクソソームの分泌が増強することを見出してきた。歯根と歯周組織の強固な付着に最も重要な役割を果たすセメント質を形成するセメント芽細胞の分化において、WNT シグナルは必須のシグナルであることを明らかにしてきた。

これらの事実から、メカニカルシグナルとセメント芽細胞への運命決定因子である WNT シグナルのコンビネーション刺激を歯根膜細胞に付与することで、エクソソーム内の情報伝達物質のプロファイリングの改変を誘導し、歯周組織再生あるいは歯根膜組織の恒常性維持に最適化されたエクソソームを生成できるのではないかという学術的な問いに至った。

2. 研究の目的

WNT・メカニカルシグナルによって歯根膜細胞エクソソームの機能を歯周組織再生に最適化し、同エクソソームを応用した歯周組織再生誘導技術の開発につなげる。さらに同エクソソームに内包された情報伝達物質を同定することにより歯根膜組織の恒常性維持の分子メカニズムの解明につなげる。

3. 研究の方法

- (1) 細胞：健全な抜去第三大臼歯より歯根膜を採取し、通法に従い歯根膜由来細胞を分離・培養した。専用培地を用いて骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨芽細胞に誘導し、その多分化能を確認した。動物由来細胞として、歯根膜系細胞としてマウス由来不死化セメント芽細胞およびマウス由来不死化歯小囊細胞、骨芽系細胞 MC3T3 細胞、破骨系細胞として RAW264.7 細胞を実験に使用した。
- (2) エクソソームの単離：これまでの先行研究を参考とし、Wnt およびメカニカル刺激 48 時間後の細胞培養上清から PureExo® 単離キットを用いてエクソソームを精製し、組織学的特性評価を行った。
- (3) エクソソームによる骨芽細胞系および破骨細胞系の分化誘導に与える機能解析：それぞれ

の培養系実験モデルを用いて、リアルタイム PCR 法、ウェスタンブロット法、酵素法などにより解析を行った。

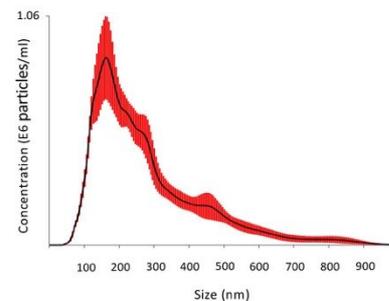
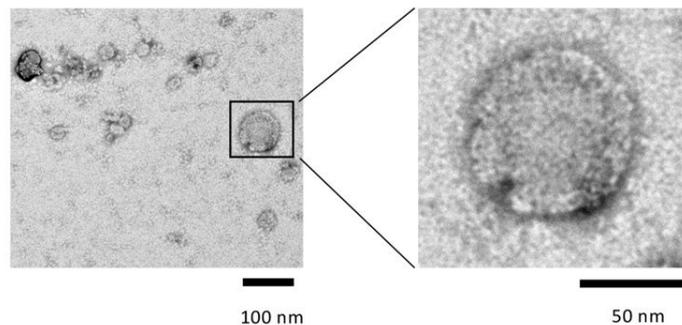
4. 研究成果

ヒト歯根膜細胞およびマウス由来歯根膜系細胞から分泌されるエクソソームについて、WNT 刺激及びメカノシグナル刺激がどのような影響を及ぼすか検討した。100 ng/ml リコンビナント WNT3A あるいは WNT アゴニスト化合物、LiCl を用い、48 時間後に細胞培養上清を回収した。PureExo 単離キットを用いてエクソソームの回収し、定量測定を行なったところ、ヒト歯根膜細胞およびマウス由来細胞の両者ともに、エクソソーム分泌量に関しては WNT 刺激の有無による有意差は認められなかった。以降の実験にはマウスセメント芽細胞株 OCCM-30 由来エクソソームに焦点を当てて実験を行った。

セメント芽細胞由来エクソソームの特性評価：

マウスセメント芽細胞株 OCCM-30 細胞の培養上清におけるエクソソームの特性評価を調べる目的で、透過型電子顕微鏡 (TEM) による解析を行ったところ、下図に示すように、カップ型の形態と直径約 100 nm の丸い膜小胞、

すなわち典型的なエクソソームの形状が確認された。さらに、エクソソームを、ナノ粒子追跡分析 (NTA) を用いて解析したところ、右下図に示すように、直径の平均最頻値は 181 ± 24.8 nm とした単一ピークを有する NAT プロファイルを示し、これはエクソソームの特性的なサイズ範囲と一致していた。エクソソームを用いた Western blot 解析により、エクソソームマーカーである、Flotillin-1, Alix, CD63, および TSG101 の発現が確認された。



セメント芽細胞由来エクソソームは破骨細胞系の分化誘導を増強する：

エクソソームを用いてマウス由来前骨芽細胞 MC3T3 を刺激培養し、ALP 活性を指標に分化度を調べたところ、分化誘導活性は認められなかった。一方、マウス破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 細胞を、リコンビナント receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (rRANKL) 刺激により破骨細胞へ分化させる実験系を用いて、エクソソームの影響を調べたところ、予想に反して、エクソソームは、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) 活性陽性細胞の形成を増強した。

セメント芽細胞由来エクソソームは単球に取り込まれる：

RAW264.7 細胞によるエクソソームの細胞内取り込みについて調べるために、PKH67 で標識したエクソソームを、RAW264.7 細胞とともに培養した後、免疫蛍光顕微鏡解析を行ったところ、エクソソームの添加後 6 時間で約 22% のエクソソームが RAW264.7 細胞に検出され、24 時間後

ではさらに約 78%に増加した。アクチン重合阻害剤である Cytochalasin D の前処理により、蛍光発色を示す細胞はほとんど観察されなかったことから、エクソソーム は RAW 264.7 細胞表面への付着によるものではなく、細胞内に取り込まれていることを示すものである

セメント芽細胞由来エクソソームは RANKL 誘導性破骨細胞関連分子を増強する：

RAW264.7 細胞をエクソソームの存在下で rRANKL とともに培養し、破骨細胞関連分子、すなわち *Nfatc1* , *Ctsk* , *Oscar* , *Acp5* , *Dc-stamp* , および *Oc-stamp* の遺伝子発現レベルをリアルタイム PCR 法を用いて解析したところ、セメント芽細胞エクソソーム の添加により、これらすべての遺伝子の発現が増強された。その増強作用は、Western blot 法による解析により、*Ctsk* および *Nfatc1* のタンパク質レベルにおいても確認された。

セメント芽細胞由来の培養上清はエクソソームによる破骨細胞分化増強作用を抑制する：

セメント芽細胞から産生される可溶性因子全体が RANKL 誘導性破骨細胞形成に与える影響について検討した。セメント芽細胞の培養上清は、細胞外小胞に加え、可溶性タンパク質、遊離核酸、脂質などの様々な可溶性因子を含んでいる。そこで、セメント芽細胞の培養上清の存在下で、RAW264.7 細胞を rRANKL で刺激培養し、TRAP 染色法と破骨細胞関連遺伝子に対するリアルタイム PCR 法で破骨細胞形成を解析したところ、TRAP 陽性多核破骨細胞はほとんど検出されず、また rRANKL 処置群と比較して *Nfatc1* と *Acp5* の発現が有意に低い値を示した。これらの結果から、セメント芽細胞から分泌される可溶性因子には、エクソソーム による RANKL 誘導性破骨細胞分化の増強効果を阻害する活性があることが示唆された。

以上のこれらの知見は、歯周組織の破壊・再生および恒常性維持のメカニズムにおける、セメント芽細胞エクソソーム の重要性を理解する上で有用であるだけでなく、エクソソームによる破骨細胞増強活性を制御する調節機構を見出すことは、骨・セメント質の再生および吸収に対する治療的開発にもつながると考えられる。本研究成果は、セメント芽細胞が分泌するエクソソームの生物活性に関する最初の報告であり、セメント芽細胞と破骨細胞間の新しいクロストークの解明に寄与するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yuan Hang, Suzuki Shigeki, Hirata-Tsuchiya Shizu, Sato Akiko, Nemoto Eiji, Saito Masahiro, Shiba Hideki, Yamada Satoru	4. 巻 22
2. 論文標題 PPAR -Induced Global H3K27 Acetylation Maintains Osteo/Cementogenic Abilities of Periodontal Ligament Fibroblasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8646 ~ 8646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22168646	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 Song Li-Ting, Tada Hiroyuki, Nishioka Takashi, Nemoto Eiji, Imamura Takahisa, Potempa Jan, Li Chang-Yi, Matsushita Kenji, Sugawara Shunji	4. 巻 -
2. 論文標題 Porphyromonas gingivalis Gingipains-Mediated Degradation of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Leads to Delayed Wound Healing Responses in Human Endothelial Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Innate Immunity	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000519737	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 Yuan H., Suzuki S., Terui H., Hirata-Tsuchiya S., Nemoto E., Yamasaki K., Saito M., Shiba H., Aiba S., Yamada S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Loss of I B Drives Dentin Formation via Altered H3K4me3 Status	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Dental Research	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) 10.1177/00220345221075968	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 Rei, Maruyama Kentaro, Nemoto Eiji, Sakisaka Yukihiko, Suzuki Shigeki, Li Jiajun, Numazaki Kento, Tada Hiroyuki, Yamada Satoru	4. 巻 13
2. 論文標題 Extracellular Vesicles Derived From Murine Cementoblasts Possess the Potential to Increase Receptor Activator of Nuclear Factor- B Ligand-Induced Osteoclastogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	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/fphys.2022.825596	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 Pelekos, G., A. Acharya, E. Nemoto, G. Hong, W. K. Leung, C. McGrath.	4. 巻 47
2. 論文標題 Effects of adjunctive probiotic L. reuteri lozenges on S/RSD outcomes at molar sites with deep pockets	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Clin. Periodontol.	6. 最初と最後の頁 1098-1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jcpe.13329.	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 Zhang, J., Y. Sakisaka, H. Ishihata, K. Maruyama, E. Nemoto, S. Chiba, M. Nagamine, H. Hasegawa, S. Yamada	4. 巻 13
2. 論文標題 Evaluation of preosteoblast MC3T3-E1 cells cultured on a microporous titanium membrane fabricated using a precise mechanical punching process.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 5288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma13225288	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 Wang Han, Tenkumo Taichi, Nemoto Eiji, Kanda Yoshiaki, Ogawa Toru, Sasaki Keiichi	4. 巻 22
2. 論文標題 Introduction of tenomodulin by gene transfection vectors for rat bone tissue regeneration	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 99 ~ 108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2022.12.008	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 Akiko, Suzuki Shigeki, Yuan Hang, Fahreza Rahmad Rifqi, Wang Xiuting, Nemoto Eiji, Saito Masahiro, Yamada Satoru	4. 巻 24
2. 論文標題 Pharmacological Activation of YAP/TAZ by Targeting LATS1/2 Enhances Periodontal Tissue Regeneration in a Murine Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 970 ~ 970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24020970	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 Tada Hiroyuki, Kawahara Kazuyoshi, Osawa Hiraku, Song Li-Ting, Numazaki Kento, Kawai Junya, Onoue Sakura, Nishioka Takashi, Nemoto Eiji, Matsushita Kenji, Sugawara Shunji	4. 巻 636
2. 論文標題 Hericium erinaceus ethanol extract and ergosterol exert anti-inflammatory activities by neutralizing lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine production in human monocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.10.090	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17件(うち招待講演 3件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 W. Han, T. Tenkumo, K. Nakamura, E. Nemoto, T. Ogawa, K, Sasaki
2. 発表標題 Tenomodulin induce bone formation activity in combination with calcium phosphate
3. 学会等名 The 99th International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山顕太郎、佐藤令、向阪幸彦、鈴木茂樹、根本英二、山田聡
2. 発表標題 周期的伸展刺激を受容したヒト歯根膜線維芽細胞はPGE2を介してM2マクロファージ分化を誘導する
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田浩之、松下健二、根本英二
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalisジンジバインによる血管内皮細胞のPAI-1分解と創傷治癒遅延
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 H. Yuan, S, Suzuki, A. Sato, E. Nemoto, M. Saito, H. Shiba, S, Yamada.
2. 発表標題 PPAR γ -induced global H3K27 acetylation is required to maintain osteo/cementogenic abilities of periodontal ligament fibroblasts
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤瞭子、鈴木茂樹、袁航、山本真豊、根本英二、齋藤正寛、山田聡
2. 発表標題 メカノレスポンス因子 MAP4K4 の歯根膜における発現とその機能解析
3. 学会等名 第63回春季日本歯周病学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 張井玉、向阪幸彦、丸山顕太郎、石幡浩志、鈴木茂樹、根本英二、山田 聡
2. 発表標題 精密マイクロパンチ加工で製作された純チタン多孔膜上における骨芽細胞様細胞培養
3. 学会等名 第63回春季日本歯周病学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤令、丸山顕太郎、向阪幸彦、根本英二、鈴木茂樹、山田聡
2. 発表標題 炎症・メカニカル環境下における歯根膜細胞の新たな抗炎症システム ～マクロファージIL-10 分泌誘導因子の発現～
3. 学会等名 第63回春季日本歯周病学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 白石大祐、根本英二、山田聡
2. 発表標題 広汎性重度慢性歯周炎患者に対し非外科による特異的抗菌療法と歯周矯正、歯周補綴により包括的治療を行った一症例
3. 学会等名 第63回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 H. Yuan, S. Suzuki, A. Sato, T. Yamamoto, E. Nemoto, M. Saito and S. Yamada
2. 発表標題 PPAR is required for periodontal ligament cells to retain cemento/osteogeneity
3. 学会等名 第68回国際歯科研究学会日本支部(JADR)総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松田真司、菅谷勉、加藤幸紀、根本英二、竹内康雄、喜田大智、沼部幸博、西田哲也、小方頼昌、申基喆、長野孝俊、両角俊哉、小松康高、出分菜々衣、神谷洋介、北村正博、田口洋一郎、高柴正悟、湯本浩通、山下明子、吉永泰周、吉村篤利、河口浩之
2. 発表標題 全身性疾患への影響を考慮した新たな歯周病重症度検査項目の策定~学会主導型多施設臨床研究~
3. 学会等名 第65回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤瞭子、鈴木茂樹、山本真豊、佐々木健人、大道寺美乃、根本英二、齋藤正寛、山田聡
2. 発表標題 メカノレスポンス受容機構活性化による歯周組織再生
3. 学会等名 第65回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本真豊、鈴木茂樹、佐藤瞭子、佐々木健人、大道寺美乃、根本英二、齋藤正寛、山田聡
2. 発表標題 新規PPAR アゴニストprocyanidin B2による歯周炎発症抑制とPPAR 遺伝子座転写産物の関与
3. 学会等名 第65回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤令、丸山顕太郎、根本英二、向阪幸彦、鈴木茂樹、黎家君、沼崎研人、多田浩之、山田聡
2. 発表標題 セメント芽細胞由来エクソソームによる破骨細胞分化制御 ~RANKL誘導性破骨細胞形成に対する増強作用~
3. 学会等名 第65回秋季日本歯周病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 向阪幸彦、佐々木健人、岩崎麻美、大谷栄毅、佐藤瞭子、山本真豊、佐藤令、栗田真夏、日原大貴、佐々木啓一、阿山晴取、アマールシュジャアデイン、石川有紀、根本英二、山田聡
2. 発表標題 歯周病リスク予測に向けた口腔状態と全身疾患関係性解明の後ろ向き研究
3. 学会等名 第65回春季日本歯周病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 根本英二
2. 発表標題 歯周病の話題: 口と全身の病気の危険な関係
3. 学会等名 第65回秋季日本歯周病学会学術大会(招待講演)(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Eiji Nemoto
2. 発表標題 Is periodontal disease contagious?
3. 学会等名 2022 UIP (University Immersion Program) of West China School of Stomatology & Campus Asia Plus Joint Symposium (ONLINE MEETING) (招待講演) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 根本英二
2. 発表標題 ホストケアから考える新しいプラークコントロールの実践
3. 学会等名 日本臨床歯周病学会 40周年記念大会(招待講演) (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 根本 英二 (分担執筆)、沼部 幸博、齋藤 淳、梅田 誠	4. 発行年 2021年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 256
3. 書名 歯科衛生士講座 歯周病学 第5版	

1. 著者名 沼部 幸博、齋藤 淳、梅田 誠、山本 松男、岩田 隆紀、小方 頼昌、小牧 基浩、五味 一博、佐藤 聡、高柴 正悟、高橋 慶壮、辰巳 順一、中島 啓介、西村 英紀、古市 保志、三谷 章雄、八重柏 隆、山田 聡	4. 発行年 2023年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 320
3. 書名 ザ・ペリオドントロジー 第4版	

1. 著者名 特定非営利活動法人日本歯科保存学会、一般社団法人日本歯内療法学会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 128
3. 書名 歯内療法学専門用語集 第2版	

1. 著者名 特定非営利活動法人日本歯科保存学会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 152
3. 書名 保存修復学専門用語集 第3版	

〔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	鈴木 茂樹 (SUZUKI SHIGEKI) (30549762)	東北大学・大学病院・講師 (11301)	
研究分担者	山田 聡 (YAMADA SATORU) (40359849)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	

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