

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05367

研究課題名（和文）膣常在乳酸桿菌は菌種により女性生殖器疾患の成因に相反する影響を及ぼす

研究課題名（英文）Vaginal Lactobacilli can have different impacts on the female reproductive tract based on the bacterial species present

研究代表者

伊藤 雅洋（Ito, Masahiro）

北里大学・薬学部・助教

研究者番号：90596727

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）：本研究により、*L. iners* は膣上皮細胞のバリア機能の破綻作用を、*L. crispatus* はバリア機能の亢進作用を有すると明らかになった。近年、日本人女性の約30%の方が膣最優勢菌として有する *Lactobacillus iners* は、約40%の方が有する *L. crispatus* と比較し、早産や子宮頸がん、不妊症、性感染症に罹患しやすいと相次いで報告されており、膣粘膜バリア機構に対する相反する作用の違いが女性生殖器疾患に罹患しやすい、あるいは罹患しにくい下地を形成していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国において子宮頸がん、早産、不妊症は年々増加している。これまで遺伝学的・細胞学的解析等ではその原因はわからなかったが、本研究結果によりその要因として膣常在細菌 *L. iners* による粘膜バリア機構への破綻作用が関与している可能性が考えられた。一方、膣常在細菌 *L. crispatus* は粘膜バリア機構を亢進させること、またその定着率を高める機構を明らかにできたことから、それらの機構を利用し、膣常在細菌を *L. iners* から *L. crispatus* に置き換えるなど、その臨床応用へとつなげることが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study revealed that *Lactobacillus iners* negatively affects the barrier function of vaginal epithelial cells, while *Lactobacillus crispatus* has a positive impact. Recent reports indicate that *Lactobacillus iners*, the most prevalent vaginal bacteria in approximately 30% of Japanese women, is linked to higher risks of preterm birth, cervical cancer, infertility, and sexually transmitted diseases compared to *L. crispatus*, which is predominant in about 40% of Japanese women. The differences in their effects on the vaginal mucosal barrier mechanism are believed to contribute to their differing susceptibilities to female reproductive diseases.

研究分野：微生物学

キーワード：膣常在乳酸桿菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国において子宮頸がん、早産、細菌性膣症は年々増加しており(周産期医療体制の現状, 2019, 厚生労働省等)、これまで遺伝学的・細胞学的解析等による原因の解明が試みられてきた。しかしながら未だその要因は明らかにされておらず、新たなアプローチによる原因の解明と解決策が望まれている。

近年、細菌叢解析技術の飛躍的な進展に伴い、女性生殖器疾患と常在細菌との関連が相次いで報告されている。女性生殖器、特に膣内には乳酸桿菌が最優勢菌として常在し、産生される乳酸は病原微生物の排除に関与するなど、その存在は有益と考えられてきた。しかしながら、乳酸桿菌 *Lactobacillus iners* が膣最優勢菌である女性では、*L. crispatus* が膣最優勢菌である女性と比較し、子宮頸がん、不妊症、早産、細菌性膣症罹患率が有意に高いと相次いで報告された(Petricevic et al., *Scientific Reports*, 2014, Kindinger et al., *Microbiome*, 2017, Norenhag et al., *BJOG*, 2019, Kadogami, et al., *Journal of Reproductive Immunology*, 2023)。一方申請者は、*L. iners*, *L. crispatus* が膣最優勢菌である日本人女性の割合がそれぞれ約 34%, 42%であると報告しており(Kurakawa, Ito et al., *Journal of Microbiological Methods*, 2015)、その割合の高さから *L. iners* (*L. crispatus*) と女性生殖器疾患との因果関係の解明が急がれる。

2. 研究の目的

膣常在乳酸桿菌が女性生殖器粘膜バリア機構に及ぼす影響およびそのメカニズムを明らかにし、子宮頸がん、早産、細菌性膣症の成因に及ぼす影響を推察することを目的とした。

3. 研究の方法

3.1 *L. iners* が分泌する inerolysin が膣粘膜バリア機構に与える影響の解明

inerolysin 遺伝子が導入された His タグ発現ベクターを有する大腸菌を IPTG 含有培地にて培養し、inerolysin タンパク質 (INY) を大量発現させた後 TALON Metal Affinity Resin を用いて精製した。得られた INY をヒトの膣上皮初代不死化細胞 (VK2/E6E7) と共に一定時間 (15, 30 分間、2, 4 時間) 培養した。培養後の細胞について、RIPA buffer を用いてタンパク質を抽出した後ウェスタンブロッティングを、または 4% PFA にて処理した後蛍光免疫染色を行い、INY が粘膜バリア機構に及ぼす影響を解析した。2 時間培養後の培養上清については LDH assay を行い、INY の細胞傷害能を評価した。なお、INY の代わりに膜孔形成欠失タンパク質 INYW481F についても同様の実験を行った。また、細胞膜受容体切断酵素 ADAM10 阻害剤 GI254023X 処理群についても同様の実験を行った。

3.2 *L. crispatus* の膣粘膜接着に及ぼすラクトフェリンの影響の解明

分離源情報やゲノム配列が公知である膣分離菌株 *L. crispatus* HM-638 について、ヒト Lf (hLf) 含有/非含有 MRS 液体培地にて 5% CO₂ 条件下一定時間静置培養した。培養後の菌体について、生菌数を算出するとともに、クリスタルバイオレットにて菌体を染色しバイオフィーム形成能を、またヨウ化プロピジウム (PI) にて染色し細菌透過性を評価した。全菌体または菌体表面層に存在する Surface layer protein (SLP) を抽出後、SDS-PAGE にて分離し、CBB 染色およびウェスタンブロッティングを行った。さらに、菌体から RNA を抽出し cDNA を調製後、q-PCR を行い、*slp* mRNA 量を算出した。上記菌体を VK2/E6E7 と一定時間共培養後 (Multiplicity of Infection : MOI 50)、DAPI 染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察後、ImageJ を用いて細胞に付着した乳酸桿菌数を計測した。また、膣上皮細胞から RNA を抽出し cDNA を調製後、q-PCR を行い、恒常性の維持に関与する *nod2*, *hβd-2* mRNA 量を算出した。VK2/E6E7 からタンパク質を抽出後、SDS-PAGE にて分離し、ウェスタンブロッティングを行った。さらに、菌体との相互作用に関与すると考えられた CD14、hLf に対する抗体にて前処理後、VK2/E6E7 に付着する乳酸桿菌数を計測した。

3.3 *L. crispatus* の膣粘膜バリア機構に及ぼす過酸化水素の影響の解明

乳酸桿菌 (*L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. plantarum*) を膣粘液再現液 (Simulated Vaginal Fluid : SVF 液体培地) にて 37°C, 5% CO₂ 条件下にて 24 時間静置培養後、培養液中の過酸化水素濃度を検量線に基づき算出した。また、膣内環境と同条件の酸素濃度 (2 または 5%) においても同様の実験を行った。VK2/E6E7 と過酸化水素 (0.2, 2, 20 μM) または *L. crispatus* HM-638 (MOI 100, 5,000) を 37°C, 5% CO₂ 条件下にて 24 時間共培養した。共培養後の細胞よりタンパク質を抽出し、SDS-PAGE にて展開後ウェスタンブロッティングを行った。その際、カタラーゼ (1,000 U/ml) を添加した条件においても同様の実験を行った。トランスウェルを用いて過酸化水素含有または非含有培地にて一定期間 (1~7 日間) 培養後、VK2/E6E7 の経上皮電気抵抗値 (TEER 値) を測定した。

4. 研究成果

4.1 *L. iners* が分泌する inerolysin が膣粘膜バリア機構に与える影響の解明

培養上清の LDH assay 結果より、細胞傷害は INY 濃度依存的に引き起こされた。また、腔上皮細胞より得られたタンパク質のウェスタンブロットング像および腔上皮細胞の蛍光免疫染色像において、細胞間接着因子 E-cadherin の細胞外ドメインは INY 濃度依存的に切断された。腔上皮細胞における p38 MAPK は INY 濃度依存的にリン酸化されていた。本活性は GI254023X 前処理群においては認められなかった。INY による濃度依存的な E-cadherin 細胞外ドメインの切断は細胞傷害との相関が示唆されたことから、INY による膜孔形成が E-cadherin の切断に不可欠と推察された。さらに、INY による細胞傷害活性および E-cadherin 切断活性は GI254023X により阻害されたことから、これらの活性には ADAM10 が関与することが示唆された。

子宮頸がんを引き起こすヒトパピローマウイルス (HPV) は粘膜の微小な傷から侵入し、上皮の最下層にある基底細胞に特異的に感染する。これまではその微小な傷は性行為などにより生じると考えられてきたが、本研究結果から腔常在乳酸桿菌 *L. iners* から分泌される INY により E-cadherin が切断されることにより生じることが示唆された。腔内微生物叢に関する大規模メタ解析により、*L. iners* が最優勢細菌種である女性では、*L. crispatus* が最優勢細菌種である女性と比較し、HPV 定着率が 3.22 倍も高いことが報告されている (Norenhag et al., *BJOG*, 2019)。この定着率の高さに *L. iners* による E-cadherin の切断が関与していることが推察され、それにより *L. iners* が最優勢菌である女性では子宮頸がん罹患率が高い可能性が考えられた。

4.2 *L. crispatus* の腔粘膜接着に及ぼすラクトフェリンの影響の解明

L. crispatus HM-638 の 24, 48, 72 時間培養後の生菌数は、培養培地中の hLf の有無によらず同程度であり、有意差は認められなかった。また hLf の有無によらず、バイオフィームアッセイにおける OD₅₉₅ 値も同程度であり、有意差は認められなかった。一方、hLf 含有培地にて培養した菌体では、hLf が *L. crispatus* の菌体に付着し、その hLf は菌体表層の SLP 画分より検出された。また、hLf 非含有培地にて培養した菌体と比較し、菌体の透過性を示す PI 染色率が有意に上昇した一方、*slp* mRNA 発現量および SLP 産生量は有意に増加していた。腔上皮細胞 VK2/E6E7 との相互作用解析において、hLf 含有培地にて培養した菌体は hLf 非含有培地にて培養した菌体と比較し、腔上皮細胞に有意に付着した。また、VK2/E6E7 内のパターン認識受容体 *nod2* mRNA 量を有意に発現亢進させ、細胞シグナル伝達経路 JNK のリン酸化を有意に亢進させた。さらに、抗菌ペプチドの一種である *hβd-2* mRNA 量を有意に発現亢進させた。一方、hLf 含有培地にて培養した菌体による VK2/E6E7 に対する付着亢進作用は、hLf または CD14 抗体の前処理により失われた。

本研究結果より、hLf は *L. crispatus* のヒト腔上皮細胞への付着を亢進させ、抗菌ペプチド *hβd-2* の発現を亢進させると示唆された。腔粘液における hLf 濃度は血中エストロゲン濃度との相関が示唆されており (Roberts et al., *European Journal of Clinical Nutrition*, 2019)、エストロゲンは腔上皮細胞のグリコーゲン濃度を高めるのと同時に、腔粘液中の hLf 濃度を高めることで乳酸桿菌 *L. crispatus* の腔粘膜定着を亢進させると推察された。また、生体内の抗菌物質として知られている hLf および HβD-2 の濃度上昇は、病原微生物の増殖および定着を阻害すると示唆されている (Yarbrough et al., *Human Reproduction Update*, 2014)。さらに、腔粘膜中の HβD-2 濃度の上昇は、早産率を低下させ、正期産の割合を高めると示唆されている (Elovitz et al., *Nature Communication*, 2019)。 *L. crispatus* が最優勢細菌種である女性では、早産が有意に低いことが報告されていることから (Petricevic et al., *Scientific Reports*, 2014, Kindinger et al., *Microbiome*, 2017)、hLf による *L. crispatus* の腔上皮細胞への定着促進とそれに伴う *hβd-2* の発現亢進が、早産率の低さに影響を及ぼしている可能性が考えられた。

4.3 *L. crispatus* の腔粘膜バリア機構に及ぼす過酸化水素の影響の解明

腔常在乳酸桿菌を培養した際の培養液中の過酸化水素濃度は、それぞれ 159.7 μM (*L. crispatus*), 167.4 μM (*L. jensenii*), 58.2 μM (*L. gasseri*) であった一方、腸管由来の乳酸桿菌 *L. plantarum* では過酸化水素は検出されなかった。腔内環境と同条件の酸素濃度 (2~5% O₂) において *L. crispatus* HM-638 を培養した際の過酸化水素濃度は、それぞれ 2.3 ± 1.3 μM (2% O₂), 37.7 ± 14.2 μM (5% O₂) であり、2%と5%では過酸化水素濃度は有意に異なった一方、報告されている腔粘液中の過酸化水素濃度と同程度であった。VK2/E6E7 と過酸化水素を共培養したところ、過酸化水素非添加群と比較し、添加群では VK2/E6E7 の PPAR_γ および Occludin タンパク質量が増加した。また、VK2/E6E7 と *L. crispatus* を共培養したところ、非添加群と比較し、添加群では VK2/E6E7 の PPAR_γ および Occludin タンパク質量が増加した。一方カタラーゼ処理群では、PPAR_γ および Occludin タンパク質量はコントロール群と同程度であり、未処理群と比較し少なかった。VK2/E6E7 の TEER 値は過酸化水素添加群では非添加群と比較し、1~7 日目まで有意に高かった。

本研究結果より、乳酸桿菌から分泌される過酸化水素量は菌種により異なること、さらに菌株によっても異なると示唆された。また、腔内環境条件においても酸素濃度が異なると過酸化水素分泌量は有意に異なると示唆された。一方、腸管由来の乳酸桿菌では過酸化水素の

分泌は認められなかったことから、乳酸桿菌から分泌される過酸化水素は女性生殖器における乳酸桿菌の定着に關与する可能性が考えられた。

腔上皮細胞において、過酸化水素は細胞間の密着結合タンパク質の一つである Occludin を産生亢進させると示唆された。同作用は *L. crispatus* と共培養した際にも認められること、一方、カタラーゼ存在下では認められなかったことから、*L. crispatus* から産生される過酸化水素は腔上皮細胞において Occludin 産生を亢進させると明らかになった。Occludin タンパク質の産生亢進は上皮細胞バリア機能に關わる TEER 値を亢進させると報告されており (Basuroy et al., *Biochemical Journal*, 2006) 本研究においても TEER 値は過酸化水素によって有意に亢進された。以上より、腔上皮において乳酸桿菌から分泌される過酸化水素は、細胞間の密着結合を増強することで病原微生物に対する上皮細胞バリア機能を高めると考えられた。子宮頸がんを引き起こす HPV の感染には細胞間隙への侵入が不可欠であることから (Stanley et al., *Vaccine*, 2006) また *L. acidophilus* W37 は密着結合關連タンパク質の発現を亢進させ TEER 値を亢進させることで、*in vitro* においてネズミチフス菌 (STM) による腸上皮の破綻を防ぎ、STM 感染を減弱・予防するなど (Lépine et al., *Frontiers in Microbiology*, 2018) 病原微生物の感染予防における細胞間接着および密着結合タンパク質の重要性が示唆されている。一方、*L. crispatus* を腔内最優勢細菌として保有する女性では、細菌性膣症や HIV 感染率は有意に低いと報告されていることから (Almeida et al., *Genetics and Molecular Research*, 2019, Hoang et al., *PLoS Pathogens*, 2020) 腔常在乳酸桿菌から分泌される過酸化水素は腔上皮細胞の密着結合タンパク質を増加させ TEER を亢進させることにより細菌性膣症や HPV や HIV の定着を阻害している可能性が考えられた。

また Occludin と同様に、*L. crispatus* から分泌される過酸化水素は細胞の恒常性に寄与する PPAR γ を産生亢進させると明らかになった。PPAR γ は生体内において、がん細胞の増殖を抑制し、がん化の予防に關与するタンパク質の一つとして知られている (Peters et al., *Nature Reviews Cancer*, 2012) 子宮頸がん細胞では正常な子宮頸部細胞と比較し PPAR γ タンパク質量が少ないこと (Jung et al., *Gynecologic Oncology*, 2005) また HPV16 陽性子宮頸がん組織では PPAR γ の発現が阻害されていることにより子宮頸がん細胞の増殖と浸潤が促進されていることが示されている (Zhang et al., *International Journal of Oncology*, 2015) さらには、PPAR γ の変異は自然早産を誘発すると報告されている (McCarthy et al., *British Journal of Pharmacology*, 2013) 一方、*L. crispatus* が腔内最優勢細菌である女性では早産や子宮頸がん罹患率が有意に低いと報告されている (Almeida et al., *Genetics and Molecular Research*, 2019) 以上のことから、*L. crispatus* から分泌される過酸化水素は腔上皮細胞の密着結合タンパク質を増加させ TEER を亢進させること、また PPAR γ の産生を亢進させ細胞の恒常性の維持に寄与することで細菌性膣症や早産、子宮頸がんの罹患予防に寄与している可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hoshino Yusuke, Sakamoto Taro, Sudo Naoki, Ito Masahiro, Haneda Takeshi, Okada Nobuhiko, Miki Tsuyoshi	4. 巻 90
2. 論文標題 Fatty Acid Homeostasis Tunes Flagellar Motility by Activating Phase 2 Flagellin Expression, Contributing to <i>Salmonella</i> Gut Colonization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Infection and Immunity	6. 最初と最後の頁 e0018422
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/iai.00184-22	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 Yokoi Tatsunari, Nishiyama Keita, Kushida Yuka, Uribayashi Kazuya, Kunihara Takahiro, Fujimoto Rika, Yamamoto Yuji, Ito Masahiro, Miki Tsuyoshi, Haneda Takeshi, Mukai Takao, Okada Nobuhiko	4. 巻 14
2. 論文標題 <i>Bifidobacterium bifidum</i> sialidase facilitates the liberation of sialic acid and encourages the proliferation of sialic acid scavenging <i>Bifidobacterium breve</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Environmental Microbiology Reports	6. 最初と最後の頁 637 ~ 645
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1758-2229.13083	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 Ishikawa Eiji, Yamada Tetsuya, Yamaji Kazuaki, Serata Masaki, Fujii Daichi, Umesaki Yoshinori, Tsuji Hirokazu, Nomoto Koji, Ito Masahiro, Okada Nobuhiko, Nagaoka Masato, Gomi Atsushi	4. 巻 24
2. 論文標題 Critical roles of a housekeeping sortase of probiotic <i>Bifidobacterium bifidum</i> in bacterium-host cell crosstalk	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103363 ~ 103363
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2021.103363	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 Miki Tsuyoshi, Hoshino Yusuke, Sudo Naoki, Ito Masahiro, Haneda Takeshi, Okada Nobuhiko	4. 巻 90
2. 論文標題 <i>uvrY</i> Deletion and Acetate Reduce Gut Colonization of Crohn's Disease-Associated Adherent-Invasive <i>Escherichia coli</i> by Decreasing Expression of Type 1 Fimbriae	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Infection and Immunity	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） 10.1128/iai.00662-21	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 該当する

1. 著者名 Shimizu Kensuke, Ito Masahiro, Katto Miyuki, Takada Toshihiko, Oana Kosuke, Makino Hiroshi, Okada Nobuhiko, Kurakawa Takashi, Oishi Kenji	4. 巻 76
2. 論文標題 Identification of genes essential for bile acid resistance in the probiotic <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> strain Shiota	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Letters in Applied Microbiology	6. 最初と最後の頁 ovad062
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/lambio/ovad062	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

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 田端 里帆, 嶋田 真帆, 伊藤 雅洋, 岡田 信彦
2. 発表標題 ラクトフェリンが腔常在乳酸桿菌 <i>Lactobacillus crispatus</i> の腔粘膜定着および恒常性維持に及ぼす影響の解明
3. 学会等名 第38回日本産婦人科感染症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yukina Tomono, Riho Tabata, Maho Shimada, Shiho Sato, Mayuko Kato, Masahiro Ito, Nobuhiko Okada
2. 発表標題 Impact of hydrogen peroxide secreted from lactobacilli on human vaginal epithelia
3. 学会等名 第96回日本細菌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Riho Tabata, Maho Shimada, Masahiro Ito, Nobuhiko Okada
2. 発表標題 Impact of lactoferrin to the interaction between vaginal <i>L. crispatus</i> and vaginal epithelial cells
3. 学会等名 第96回日本細菌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤 雅洋、嶋田 真帆、加藤 真友子、佐藤 史歩、田端 里帆、Adam J. Ratner、岡田 信彦、Melissa M. Herbst-Kralovetz
2. 発表標題 腔常在乳酸桿菌 <i>Lactobacillus iners</i> が腔上皮細胞の細胞間接着結合に与える影響の解析
3. 学会等名 第37回日本産婦人科感染症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 友野 柚希奈 , 伊藤 雅洋 , 岡田 信彦
2. 発表標題 腔常在乳酸桿菌から分泌される過酸化水素が腔上皮細胞に与える影響の解明
3. 学会等名 第68回日本生殖医学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉岡 桐佳 , 友野 柚希奈 , 伊藤 雅洋 , 岡田 信彦
2. 発表標題 腔常在乳酸桿菌 <i>Lactobacillus iners</i> の腔粘膜定着機構の解明
3. 学会等名 第68回日本生殖医学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤 雅洋
2. 発表標題 腸内細菌およびプロバイオティクスの基礎知識
3. 学会等名 第9回日本臨床栄養代謝学会 東北支部学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田端 里帆 , 友野 柚希奈 , 嶋田 真帆 , 伊藤 雅洋 , 岡田 信彦
2. 発表標題 ラクトフェリンが腔常在乳酸桿菌の腔粘膜定着および恒常性維持に及ぼす影響の解明
3. 学会等名 第39回日本産婦人科感染症学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masahiro Ito
2. 発表標題 Vaginal microbiota and women's health: Possible intervention based on the simpler microbiological ecosystem in vagina ?
3. 学会等名 6th Microbiome R&D and Business Collaboration Congress: Asia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 永田 智、野本 康二、伊藤 雅洋、大坂 利文、金 倫基、柳澤 直子	4. 発行年 2022年
2. 出版社 総合医学社	5. 総ページ数 264
3. 書名 腸内細菌を正しく理解するー入門・基礎編ー	

〔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

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

米国	University of Arizona	New York University		
----	-----------------------	---------------------	--	--