

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07129

研究課題名（和文）オートファジー細胞死を誘導するBHLHE41の細胞死と肺細胞の発がん抑制機構解明

研究課題名（英文）Mechanisms analysis of lung cancer suppression and cell death by an autophagy inducible gene BHLHE41.

研究代表者

古川 龍彦（Tatsuhiko, Furukawa）

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：40219100

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）：肺がんは我が国のがんの死亡原因の一位でなお発症は増加しており、発生機構の解明と革新的治療法が求められる。

BHLHE41はサーカディアンリズムや細胞の分化などで主に抑制的に機能する転写因子とである。我々はその腫瘍部での発現は患者の予後良好相関し、BHLHE41の肺がん細胞株での発現がオートファジー細胞死を起こすことを見出している。BHLHE41はMYCの機能を抑制して、BAXの発現を抑制することが分かった。また、MYCで発現が誘導されるCyclinA2やCDK4複数の遺伝子発現を抑制することを見いだした。BHLHE41はMYCの機能を阻害する分子として機能して発がんの抑制に関わると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

異種移植系でBHLHE41の強制発現は肺がん細胞の縮小効果からBHLHE41の標的分子は肺がんの治療の標的となりえることをすでに示している。

本研究でBHLHE41のMYCの機能の抑制という、非小細胞肺癌発生でのBHLHE41の重要性の一端が具体的に明らかにできた。BHLHE41はがんの悪性化ステップで必要になるMYCの機能の活性化を抑制することが推測された。BHLHE41が抑制するMYCを含む活性化分子群を同定することで肺がんのハイリスク群での早期肺がんの悪性化の予防が可能になる可能性があり、世界的にも増加傾向にある肺がんの予防という革新的な医療が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Lung cancer is the leading cause of cancer death in Japan, and its incidence continues to increase.

BHLHE41 is a transcription factor that mainly functions in a repressive manner in circadian rhythms and differentiations of various cell lineages. We have found that expression of BHLHE41 in tumor cells correlates with good prognosis of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and that induction of BHLHE41 expression in NSCLC cell lines causes autophagic cell death. In this study, we found that BHLHE41 suppressed MYC function and BAX expression, and BHLHE41 also suppressed MYC-inducible gene expression, including Cyclin-A2 and CDK4 genes. BHLHE41 may suppress carcinogenesis by acting as an inhibitor of MYC function.

研究分野：がん生物学

キーワード：非小細胞肺癌 BHLHE41 細胞死 BAX オートファジ MYC

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

BHLHE40 と BHLHE41 は basic helix loop helix 型転写因子に属する分子で、アミノ酸レベルで 77% の類似性があり、E-Box 結合性の転写因子として主に mRNA 発現の抑制に関わる分子である。2 つの分子はしばしば連携して、細胞分化やサーカディアンリズムに関わる。BHLHE40 は DNA 障害に反応して P53 依存性・依存性に細胞死、老化の誘導によるがん抑制的な作用とともに、PI3K/AKT や HEBGF を介して上皮系のがんにおいてがん促進的に働くことも報告されている。BHLHE41 も脂肪細胞、Th2 細胞などの発生分化などに重要な働きをしていることが報告されているほか、肺がん、乳がんではがん抑制遺伝子として報告されている [1]。一方、MLL-AF6 融合遺伝子発現 AML、腎臓の淡明細胞がんではその発現はがん促進的と報告され、MLL-AF6 発現 AML では BHLHE41 は MLL-AF6 融合たんぱく質と結合して多くの白血病関連分子の発現を誘導することが報告されている [2]。

我々は正常な肺上皮には発現している BHLHE41 遺伝子産物の発現が、肺腺癌、扁平上皮癌で浸潤性と逆相関していること。その発現は肺腺がん患者の予後に関連すること。肺がん細胞株に強制発現させるとオートファジー細胞死を誘導することを見だし報告した [3]。これらのことから BHLHE41 は肺がんの早期に失活するがん抑制遺伝子と考えられ、肺がん発生に重要な分子であると想定された。

2. 研究の目的

BHLHE41 がオートファジー細胞死を誘導する機構を検討すること、肺がん悪性化進行過程での BHLHE41 の悪性化抑制機構を明らかにすることを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) p53 遺伝子が野生型の肺腺がん細胞である A549 細胞では BHLHE41 の発現によって、p53 産物のタンパク質発現が誘導されるにも関わらず、BAX は発現が低下することを観察した。通常 BAX は p53 の安定化で発現が上昇し、アポトーシスの誘導に寄与することが知られている。BHLHE41 がオートファジーを誘導する一つの機構として、細胞のアポトーシスを回避していると考えられた。そこで BHLHE41 の発現誘導が BAX の発現を抑制する機構に注目して解析を行った。BHLHE41 の発現による BAX の mRNA の低下を確認の上、BAX の転写開始点から約 1kb の 5' UTR と転写開始点、翻訳開始部位を含む DNA を pGL3 ベクターに挿入してルシフェラーゼアッセイを行った。細胞はドキシサイクリン (DOX) 存在下で BHLHE41/DEC2 を発現する肺がん細胞株 A549 (A549/tet#1, A549/tet#6) と H2030 (H2030/tet#1, H2030/tet#26) を樹立して使用した。

(2) p53 変異型の H2030 肺腺癌細胞株でも BHLHE41 発現による BAX の発現抑制が観察できたことから E-box に結合するユピキタスに発現している分子として MYC を候補分子として想定した。MYC の発現が BAX の発現誘導に必要であることを予測し、siRNA を用いて MYC をノックダウンによって BAX の発現に変化が起きるかどうかを確認した。さらに、BHLHE41 の BAX の 5' UTR への結合を証明するためにクロマチン免疫沈降 (CHIP) アッセイを行った。BAX-5' UTR 4 つの E-box の両側にプライマーを設定した。陽性コントロールとしてすでに BHLHE41 の制御が報告されている CYCLIN D1 の 5' UTR のプライマーを用いた [4]。

(3) MYC の下流で発現が高まると考えられる 8 つの遺伝子について RT-PCR を用いて mRNA の発現が BHLHE41 の誘導で変化するかどうかを調べた。CDK4 についてはタンパク質発現の変化を合わせて確認した。

(4) 肺上皮不死化細胞について発がん遺伝子の導入による発がんアッセイ系を作成を用いて BHLHE41 の発がんでの阻害機能を明らかにする。

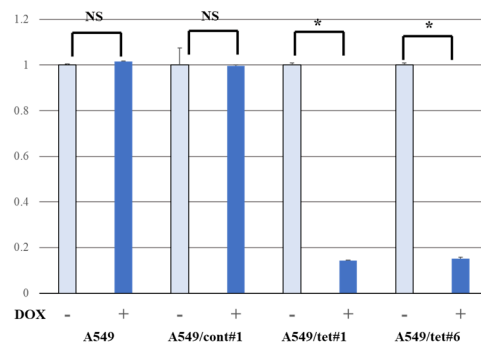


図1: BHLHE41発現誘導下でのBAX-5'UTRのルシフェラーゼ活性

4. 研究成果

(1) BHLHE41 発現下での BAX のタンパク質と RNA の発現の低下を確認した。A549 細胞 DOX 存在下で BHLHE41 を発現誘導する、A549-tet#1, #6 の細胞では DOX 存在下で BAX-5' UTR のルシフェラーゼの有意な活性低下が観察された (図1)。

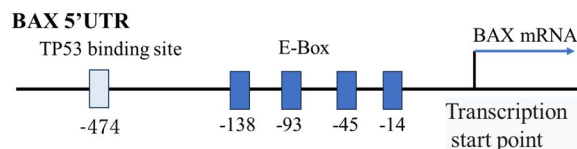


図2: BAX-5'UTRの概略図

この結果から BAX-5'UTR の配列情報から BHLHE41 は BAX の 5'UTR の転写開始点から上流(-138-133、-93-88、-45-40、-14-10) に存在する 4 つの E-BOX に結合すると予測され、その結合タンパク質と競合する可能性が考えられた。またこの領域は p53 の結合領域(-474-464) よりも転写開始点に近く発現により根本的な影響を与える可能性が示唆された。(図 2)

(2) MYC に対する siRNA の存在下では BAX の発現が低下し、さらに BHLHE41 の発現条件ではほぼ消失していた。このことから MYC の発現が BAX タンパク質の発現に必要なことが裏付けられた。CHIP アッセイの結果から BHLHE41/DEC2 が BAX の 5'UTR の E-Box の領域に結合することを明らかにした(図 3)。

(3) BHLHE41 の発現誘導によって 4 つの MYC の下流分子 CDK4, CCNA2(CYCLIN-A2), LDHA, MGST (Microsomal Glutathione S-Transferase 1) の mRNA の低下を観察し(図 4)。CDK4 についてはタンパク質の減少も確認できた。

これらの結果から BHLHE41 は MYC の機能を阻害することで発がんオートファジに関わることが想定される。

(4) 肺上皮不死化細胞に対して誘導性ながん遺伝子を導入して発がん形質転換の系の樹立を試みたが、細胞株として維持することが困難であった。名古屋大学の斎藤実教授に御協力をいただき[5]、誘導性に変異型 RAS を発現することで悪化が観察できる肺気管支上皮不死化細胞の分与を受けたので今後のこの実験系を用いて研究の進展させる。

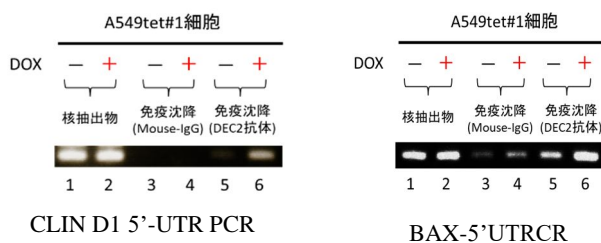


図 3:CHIP アッセイ

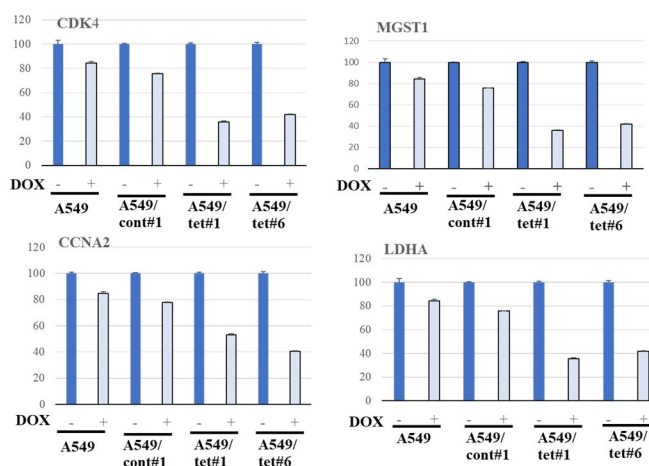


図 4 BHLHE41/DEC2発現誘導によるMYC下流遺伝子の発現低下

引用文献

1. Furukawa, T.; Mimami, K.; Nagata, T.; Yamamoto, M.; Sato, M.; Tanimoto, A., Approach to Functions of BHLHE41/DEC2 in Non-Small Lung Cancer Development. *Int J Mol Sci* 2023, 24, (14). doi:10.3390/ijms241411731
2. Numata, A.; Kwok, H. S.; Kawasaki, A.; Li, J.; Zhou, Q. L.; Kerry, J.; Benoukraf, T.; Bararia, D.; Li, F.; Ballabio, E.; Tapia, M.; Deshpande, A. J.; Welner, R. S.; Delwel, R.; Yang, H.; Milne, T. A.; Taneja, R.; Tenen, D. G., The basic helix-loop-helix transcription factor SHARP1 is an oncogenic driver in MLL-AF6 acute myelogenous leukemia. *Nat Commun* 2018, 9, (1), 1622. doi:10.1038/s41467-018-03854-0
3. Nagata, T.; Minami, K.; Yamamoto, M.; Hiraki, T.; Idogawa, M.; Fujimoto, K.; Kageyama, S.; Tabata, K.; Kawahara, K.; Ueda, K.; Ikeda, R.; Kato, Y.; Komatsu, M.; Tanimoto, A.; Furukawa, T.; Sato, M., BHLHE41/DEC2 Expression Induces Autophagic Cell Death in Lung Cancer Cells and Is Associated with Favorable Prognosis for Patients with Lung Adenocarcinoma. *Int J Mol Sci* 2021, 22, (21). doi:10.3390/ijms222111509
4. Li, Y.; Shen, Q.; Kim, H. T.; Bissonnette, R. P.; Lamph, W. W.; Yan, B.; Brown, P. H., The rexinoid bexarotene represses cyclin D1 transcription by inducing the DEC2 transcriptional repressor. *Breast Cancer Res Treat* 2011, 128, (3), 667-77. doi:10.1007/s10549-010-1083-9
5. Sato M, Larsen JE, Lee W et al. Human lung epithelial cells progressed to malignancy through specific oncogenic manipulations *J. Mol. Cancer Res.* 2013;11(6):638-50.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Do Y, Yagi M, Hirai H, Miki K, Fukahori Y, Setoyama D, Yamamoto M, Furukawa T, Kunisaki Y, Kang D, Uchiumi T.	4. 巻 44
2. 論文標題 Cardiomyocyte-specific deletion of the mitochondrial transporter Abcb10 causes cardiac dysfunction via lysosomal-mediated ferroptosis.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biosci Rep.	6. 最初と最後の頁 20231992
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1042/BSR20231992.	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 Hamada T, Higashi M, Yokoyama S, Akahane T, Hisaoka M, Noguchi H, Furukawa T, Tanimoto A.	4. 巻 23
2. 論文標題 MALAT1 functions as a transcriptional promoter of MALAT1::GLI1 fusion for truncated GLI1 protein expression in cancer.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 424-435
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12885-023-10867-6.	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 Furukawa T, Mimami K, Nagata T, Yamamoto M, Sato M, Tanimoto A.	4. 巻 24
2. 論文標題 Approach to Functions of BHLHE41/DEC2 in Non-Small Lung Cancer Development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 11731-11742
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms241411731.	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 Takumi S, Hashimoto K, Tomioka M, Sato M, He W, Komatsu Y, Aoki S, Ikeda R, Shiozaki K, Furukawa T, Komatsu M	4. 巻 88
2. 論文標題 Acteoside from <i>Conandron ramondioides</i> Reduces Microcystin-LR Cytotoxicity by Inhibiting Intracellular Uptake Mediated by OATP1B3.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Planta Med.	6. 最初と最後の頁 616-623
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1055/a-1978-8768.	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 Furukawa T, Tabata S, Minami K, Yamamoto M, Kawahara K, Tanimoto A.	4. 巻 1867
2. 論文標題 Metabolic reprogramming of cancer as a therapeutic target	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta Gen Subj	6. 最初と最後の頁 130301-130315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2022.130301.	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 Ishihara Y, Nakamura K, Nakagawa S, Okamoto Y, Yamamoto M, Furukawa T, Kawahara K.	4. 巻 23
2. 論文標題 Nucleolar Stress Response via Ribosomal Protein L11 Regulates Topoisomerase Inhibitor Sensitivity of P53-Intact Cancers.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 15986-15997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232415986.	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 Nakagawa S, Kawahara K, Okamoto Y, Kodama Y, Nishikawa T, Kawano Y, Furukawa T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Association between Dysfunction of the Nucleolar Stress Response and Multidrug Resistance in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 5127-5141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14205127.	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 Aoki M, Ueda K, Kamimura G, Iwamoto Y, Ikehata M, Tabata K, Sakagami Y, Morizono S, Tokunaga T, Umehara T, Harada-Takeda A, Maeda K, Nagata T, Kariatsumari K, Furukawa T, Tsujikawa K, Sato M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Clinical significance of ALKBH4 expression in non-small cell lung cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Transl Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 2040-2049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/tcr-22-39.	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 Nagata T, Minami K, Yamamoto M, Hiraki T, Idogawa M, Fujimoto K, Kageyama S, Tabata K, Kawahara K, Ueda K, Ikeda R, Kato Y, Komatsu M, Tanimoto A, Furukawa T, Sato M.	4. 巻 22
2. 論文標題 BHLHE41/DEC2 Expression Induces Autophagic Cell Death in Lung Cancer Cells and Is Associated with Favorable Prognosis for Patients with Lung Adenocarcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 11509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222111509. PMID: 34768959	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 Otsuka T, Ueda K, Furukawa T, Koriyama C, Inoue I, Sato M.	4. 巻 41
2. 論文標題 Significance of Mitochondrial DNA Haplogroup on Epidermal Growth Factor Receptor Mutation in Japanese Patients With Lung Adenocarcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 3997-4004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.15197	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 Shinagawa N, Minami K, Ishida T, Hijioka H, Yamamoto M, Kawahara K, Furukawa T, Nakamura N	4. 巻 18
2. 論文標題 Combination of hydroxyurea and tranilast suppresses gemcitabine resistance induced by ribonucleotide reductase M1 in gemcitabine-resistant cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oral Science internationa	6. 最初と最後の頁 169-177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/osi2.1096	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 Jingushi K, Aoki M, Ueda K, Kogaki T, Tanimoto M, Monoe Y, Ando m, Matsumoto T, Minami K, Ueda k, Kitae K, Hase H, Nagata T, Harada-Takeda A, Yamamoto M, Kawahara K, Tabata K, Furukawa T, Sato M, Tsujikawa K	4. 巻 11
2. 論文標題 ALKBH4 promotes tumourigenesis with a poor prognosis in non-small-cell lung cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8677
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-87763-1	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 Kogaki T, Ohshio I, Ura H, Iyama S, Kitae K, Morie T, Fujii S, Sato S, Nagata T, Takeda AH, Aoki M, Ueda K, Minami K, Yamamoto M, Kawahara K, Furukawa T, Sato M, Ueda Y, Jingushi K, Tozuka Z, Saigusa D, Hase H, Tsujikawa K.	4. 巻 197
2. 論文標題 Development of a highly sensitive method for the quantitative analysis of modified nucleosides using UHPLC-UniSpray-MS/MS	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 113943-113943
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2021.113943	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14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 河原康一、古川龍彦
2. 発表標題 P53経路を活性化する核小体ストレス応答を利用した新規がん分子標的治療
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kohichi Kawahara, Shunsuke Nakagawa, Yasuhiro Okamoto, Tatsuhiko Furukawa
2. 発表標題 Nucleolar stress response predicts sensitivity to anticancer therapy
3. 学会等名 10th MDM2 workshop (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 河原康一、古川龍彦
2. 発表標題 P53経路を活性化する新たながん分子標的治療薬の開発
3. 学会等名 第 82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kohichi Kawahara, Shunsuke Nakagawa, Yasuhiro Okamoto, Tatsuhiko Furukawa
2. 発表標題 Nucleolar stress response predicts sensitivity to anticancer therapy
3. 学会等名 ANNUAL CONGRESS OF THE EUROPEAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 河原 康一、石原 由香、古川 龍彦
2. 発表標題 癌抑制遺伝子p53を制御する機構を利用した新たな癌分子標的治療薬の創生
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 河原康一、石原由香、古川龍彦
2. 発表標題 がん抑制遺伝子P53を制御する機構を利用したがん分子標的治療薬の開発の試み
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川龍彦、河原康一、南謙太郎
2. 発表標題 FMNL1の発現は悪性膠芽腫の運動性と浸潤性に関わる予後不良因子である
3. 学会等名 第26回日本がん分子標的治療学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河原康一、古川龍彦
2. 発表標題 抗がん剤治療の感受性を左右する核小体のストレス応答の役割解明
3. 学会等名 第26回日本がん分子標的治療学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川龍彦、南謙太郎、永田俊之、山本雅達、河原康一、蔭山 俊、小松勝明、佐藤雅美
2. 発表標題 オートファジ 誘導遺伝子BHLHE41の抗腫瘍活性
3. 学会等名 第8回がん代謝研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河原 康一、古川龍彦
2. 発表標題 核小体ストレス応答機構によるトポイソメラーゼ阻害剤のがん治療感受性の制御の解明
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川龍彦、山本雅達、河原康一、南謙太郎
2. 発表標題 インテグリン 5-FARP1-CDC42経路を通じた胃癌細胞の浸潤性の制御とその阻害
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川 龍彦、南 謙太郎、山本雅達、河原康一
2. 発表標題 FARP1はインテグリン v 5に結合し、その発現上昇は進行胃がんの予後に関わる
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古川龍彦、南 謙太郎、河原康一、山本雅達
2. 発表標題 インテグリン 5 阻害剤はFARP1-CDC42経路を通じて胃がんの浸潤性を低下させる
3. 学会等名 第95回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川龍彦、南 謙太郎、河原康一、山本雅達
2. 発表標題 インテグリン 5 阻害剤はFARP1-CDC42経路を通じて胃がんの浸潤性を低下させる
3. 学会等名 第95回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022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	河原 康一 (Kawahara Kohich) (00400482)	鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授 (17701)	

6. 研究組織（つづき）

	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	山本 雅達 (Yamamoto Masatatsu) (40404537)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教 (17701)	

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