

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08491

研究課題名(和文) PIM阻害剤によるHIVタイプ特異的な複製能調節機構の解明

研究課題名(英文) Analysis on the HIV type-specific alteration in viral infectivity by PIM kinase inhibitors

研究代表者

土肥 直哉 (DOI, Naoya)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・助教

研究者番号：80754217

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：PIMキナーゼ(PIM)は種々の細胞内イベントに関与する。我々は、3種のPIMの内、2種がHIVの粒子産生を低下させることを見出した。この低下は、ウイルスタンパク質発現量の低下により起こるが、HIV遺伝子発現過程をより詳細に解析した結果、2種のPIMによるウイルスタンパク質発現量/粒子産生量低下における作用点は異なり、1種はHIVの転写を、別の1種はHIVの転写以外の過程を抑制することが示唆された。今後、PIMの標的分子の同定を含め、HIV粒子産生抑制機構を厳密に解析していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PIMは3種類知られており、種々の細胞内イベントに関与するため、PIMの標的分子については未解明な点が多い。我々は、本研究により、2種のPIMがHIV粒子産生過程において、異なるステップに作用するという知見を得た。研究システムが広範に確立されているHIV-1を用いれば、各ウイルス複製過程を詳細かつ厳密に解析することができるため、粒子産生抑制における2種のPIMそれぞれの標的分子同定に有利、有用であると考えられる。本研究の推進は、PIM研究に関する新知見を提供すると共に、HIV粒子産生を抑制する新たな手法の確立に繋がると期待できる。

研究成果の概要(英文)：PIM kinases (PIM) have been reported to be related to various cellular events such as transcription and cell cycle. While there are three types of PIM, we found that two types of PIM can reduce HIV virion production. The reduction in virion production was clearly associated with a decrease in the expression levels of viral proteins. Further analysis on the process of HIV gene expression revealed that two types of PIM differently affect the reduction in viral protein expression/ virion production levels, showing that one of them inhibits the HIV transcription step but not the other one. Studies to elucidate the basis for molecular mechanism by which two types of PIM reduce HIV virion production via different pathways, including identification of their target molecules, are actively and rigorously ongoing in our laboratory.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HIV PIM 遺伝子発現 粒子産生

1. 研究開始当初の背景

抗レトロウイルス療法が確立されているものの、HIVは依然、世界中で伝播し続けているウイルスである。HIVには、2つのタイプ、HIV-1とHIV-2があるが、HIV-1は全HIV感染者の99%以上を占める一方、HIV-2感染者は100万人を超える程度であり、西アフリカなど限られた地域に分布している(文献1)。HIV-1とHIV-2は、起源となったサル免疫不全ウイルス(SIV)やゲノム構造が異なるが、病態進行の違いなどに関わる要因は未解明な点が多い。また、HIV-2の病原性は減弱しており、HIV-2感染者はエイズへの進行がHIV-1感染者より緩慢であるとされている。病原性に関して、HIV-2感染者では末梢血リンパ球でのウイルス潜伏細胞(リザーバー)のサイズがHIV-1感染者に比べて小さいという報告がある。他方、リザーバーのサイズではなく、リザーバーで発現しているウイルスRNA量が少ない、つまり、HIV-2の転写が抑制されているという報告もある(文献2-4)。これらにより、HIV-1とHIV-2の感染力や複製能(特に転写)の違いが示唆されていた。

我々は、学内共同研究により得られたPIMキナーゼ(PIM)阻害剤の誘導体がHIV-1とHIV-2の感染性に及ぼす影響を調べた結果、PIM阻害剤がHIVタイプ特異的に感染価の増減を引き起こすことを見出していた(図)。PIMに着目し、病態進行などと関連し得るHIV-1とHIV-2の感染力や複製能の違いを生じる要因が明らかになれば、HIV-2の病態進行の緩慢さが何に由来するのか、ひいては、世界中に蔓延しているHIV-1の制御にも役立つ可能性があるのではないかと考え研究を開始した。

2. 研究の目的

PIM阻害剤を用いてHIVタイプ特異的複製調節機構を解明することを目的とした。PIM阻害剤に対する感受性の差異を生じる機序を解析することで、HIV-1とHIV-2の感染価や複製能の違いを生じる要因の解明を目指した。

3. 研究の方法

(1) プラスミドDNA

HIV-1(NL4-3)およびHIV-2(GL-AN)のプロウイルスクローンを使用した。レポーターウイルスとして、NL4-3およびGL-ANのenv遺伝子を欠損させ、nef遺伝子にルシフェラーゼ遺伝子を導入したものを用いた。3種のPIMおよびそれらのキナーゼ活性欠損変異を持つ発現ベクターを使用した(文献5,6)。

(2) 細胞

HEK293T細胞株およびルシフェラーゼレポーター細胞株(TZM-bl)を用いた。培養には、10%牛血清加イーグルMEM培地を使用した。THP-1細胞株は10%牛血清加RPMI1640培地で培養した。

(3) 複製前期過程の解析

HEK293T細胞にVSV-G発現ベクターとレポーターウイルスクローンをコトランスフェクションし、ウイルスを含む培養上清を回収した。THP-1細胞株をPMAで刺激しマクロファージ様細胞に分化させた。各PIM阻害剤で前処理後、等量のシュードウイルスを接種し、2日後に細胞を回収しルシフェラーゼ活性を測定した(文献6)。インテグレーション量の解析は、感染後に回収した細胞からDNAを調製し、Alu-PCR産物を増幅した。この産物を鋳型として定量PCRを実施した(文献7)。

(4) ウイルス遺伝子発現と粒子産生

HEK293T細胞にHIV-1およびHIV-2のレポーターウイルスクローンとPIM発現ベクターをコトランスフェクションした。2日後に、細胞を回収し、ルシフェラーゼ活性(=HIVの遺伝子発現量)を測定した。

HEK293T細胞にHIV-1およびHIV-2のプロウイルスクローンとPIM発現ベクターをトランスフェクション後、2日目に培養上清を回収しウイルス量をGag-p24 ELISAで測定した。ウ

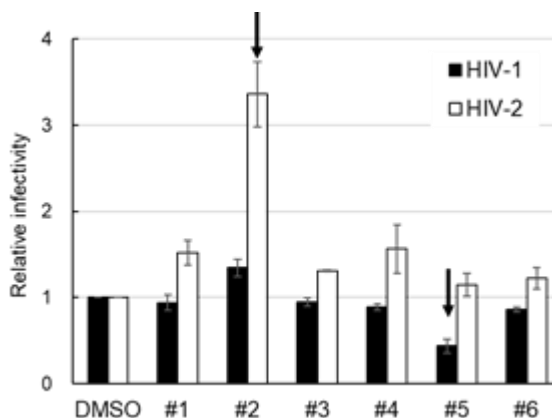


図. PIM阻害剤がウイルス感染価に及ぼす影響。フォルボールエステル(PMA)刺激によりマクロファージ様に分化させたTHP-1細胞を各阻害剤で前処理後、ルシフェラーゼ遺伝子をコードするHIV-1とHIV-2のVSV-Gシュードウイルスを接種した。感染2日後に細胞を回収しルシフェラーゼアッセイを行った。感染価は、各ウイルスにおけるDMSO処理で得られたルシフェラーゼ活性を1として、各ウイルスの阻害剤処理で得られたルシフェラーゼ活性の相対値で表した。使用した各阻害剤の濃度(細胞の生存率は概ね90%以上)は次の通りである。#1, #2, #4は20uM、#3, #6は5uM、#5は2uM。

ウイルスタンパク質の発現は、同様にトランスフェクションした細胞のライセートを調製し、各種ウイルスタンパク質の抗体を用いたウェスタンブロッティングを行い解析した（文献 7）。

（5）ウイルスの転写活性

HEK293T 細胞に HIV-1 プロウイルスクローンと PIM 発現ベクターをコトランスフェクションした。RNA を調製後、全ウイルス転写 RNA を増幅するプライマー（3'LTR 領域内）を用いて定量 RT-PCR を行った（文献 8）。

4. 研究成果

（1）PIM 阻害剤を用いた研究

PIM は、転写や細胞周期などを調節する種々の分子を基質としており、細胞の増殖や分化に関与する。PIM は、PIM1、PIM2、PIM3 に分類され、各 PIM が発現している細胞や組織が異なることが知られている（文献 9, 10）。図で観察される PIM 阻害剤による HIV タイプ特異的な感染価への影響について調べた。定量 PCR により、これらの PIM 阻害剤がインテグレーションされたゲノム量に影響していない、つまり、PIM 阻害剤による HIV タイプ特異的な感染価の変動が、複製前期過程への影響によるものではないことを確認した。PIM が HIV の遺伝子発現に影響することが示唆された。当初は、PIM 阻害剤を使用し、その HIV タイプ特異的な感染価変動の機構を調べることを予定していた。しかし、PIM 阻害剤の作用点や PIM 阻害剤によるキナーゼ活性の変化は、細胞内の生理環境に対して種々の影響を及ぼすと予測されたため、PIM の発現自体が HIV-1/HIV-2 の遺伝子発現に与える影響を調べることにした。

（2）PIM が HIV 遺伝子発現に及ぼす影響

PIM が HIV-1/HIV-2 の遺伝子発現に及ぼす影響は、当初、図で使用していたシュードウイルス作製用である、HIV-1 と HIV-2 の *nef* 遺伝子にルシフェラーゼ遺伝子を導入したウイルスクローンを使用していた。このクローンと PIM 発現ベクターを HEK293T 細胞にコトランスフェクションすると、PIM の存在下での遺伝子発現（ルシフェラーゼ活性）は、HIV-1 では増加するが、HIV-2 では減少することが分かった。PIM は細胞内の種々のイベントに関与するため、PIM 阻害剤（図に示す感染価への影響）や PIM によるウイルス遺伝子発現（細胞内ルシフェラーゼ活性）の HIV タイプ特異的な影響は、ルシフェラーゼを導入したウイルスクローン特異的な現象ではないか考えられた。そこで、ルシフェラーゼ遺伝子を持たない真正のプロウイルスクローンを用いる実験に変更した。その結果、当初の HIV タイプ特異的な現象は観察されなかったが、HEK293T 細胞での PIM 過剰発現は HIV 粒子産生を阻害することが分かった。この現象は、3 種の PIM の内、2 種で認められた。また、2 種の PIM と HIV-1 とをコトランスフェクションすると、それぞれの PIM 単独の過剰発現よりもさらに HIV-1 産生量が低下し、2 種の PIM は異なる作用点を持つことが示唆された。

（3）2 種の PIM による HIV 粒子産生抑制に関する研究

まず、2 種の PIM による HIV-1/HIV-2 の粒子産生抑制が PIM のキナーゼ活性によるものか否かを明らかにするため、それぞれの PIM の *kinase dead* 変異体（PIMkd）と HIV プロウイルスクローンを HEK293T 細胞にコトランスフェクション後、粒子産生を調べた。その結果、2 種の PIMkd では、HIV 粒子産生抑制は起こらず、PIM のキナーゼ活性依存的に HIV 粒子産生抑制が起こることを見出した。

2 種の PIM による HIV 粒子産生抑制機構を解析するため、まず、2 種の PIM が HIV-1 タンパク質発現に及ぼす影響を調べた。その結果、いずれの PIM も HIV-1 タンパク質発現を低下させることが分かった。ウイルスタンパク質発現を低下させたことから、PIM が転写・翻訳に影響し得ると考え、まず転写に及ぼす影響を調べた。興味深いことに、2 種の内、1 種の PIM は HIV-1 転写を低下させたが、別の 1 種は転写への影響は認められなかった。これらの結果から、HIV-1 粒子産生を抑制させる 2 種の PIM の作用点が異なっていることが示された。

（4）今後の展望等

PIM に関しては、癌領域研究で注目されており、また、多様な活性・機能が報告されているが、PIM が標的とする分子など未解明な点も多い。本研究の推進により、2 種の PIM が HIV 粒子産生を抑制すること、かつ、2 種の PIM の作用点が異なる、つまり、2 種の PIM が明確に異なる標的分子を持つことが明らかになった。特に、HIV 粒子産生抑制が PIM のキナーゼ活性依存的であることから、2 種の PIM それぞれが標的とする分子が同定できれば、PIM 研究に与えるインパクトは高く、また、HIV 粒子産生を抑制するための新たな手法の確立に繋がると期待できる。様々な解析システムが広範に確立されている HIV-1 を用いることにより、ウイルスの遺伝子発現から粒子産生までの各ステップへの PIM の影響を詳細に調べることができ、2 種の PIM の標的分子同定には有利であると考えており、現在、その方針で活発に研究を進めている。我々が調べた限り、HIV の標的細胞であるリンパ球系細胞株では、PIM の発現量は低い。HIV の粒子産生抑制は PIM の過剰発現系で見られるものであるが、一方、HIV は PIM が存在するような細胞では増殖することができないため、PIM 発現量の低い細胞株を標的としているとも考えられ、実際の HIV 複製を考慮しても PIM による HIV 粒子産生抑制は、非常に興味深

い現象であると考えている。

文献リスト

文献 1

Le Hingrat Q, Visseaux B, Bertine M, Chauveau L, Schwartz O, Collin F, Damond F, Matheron S, Descamps D, Charpentier C. Genetic Variability of Long Terminal Repeat Region between HIV-2 Groups Impacts Transcriptional Activity. *J Virol.* 2020 Mar 17;94(7):e01504-19. doi: 10.1128/JVI.01504-19.

文献 2

Grassly NC, Xiang Z, Ariyoshi K, Aaby P, Jensen H, Schim van der Loeff M, Dias F, Whittle H, Breuer J. Mortality among human immunodeficiency virus type 2-positive villagers in rural Guinea-Bissau is correlated with viral genotype. *J Virol.* 1998 Oct;72(10):7895-9. doi: 10.1128/JVI.72.10.7895-7899.1998.

文献 3

Popper SJ, Sarr AD, Guèye-Ndiaye A, Mboup S, Essex ME, Kanki PJ. Low plasma human immunodeficiency virus type 2 viral load is independent of proviral load: low virus production in vivo. *J Virol.* 2000 Feb;74(3):1554-7. doi: 10.1128/jvi.74.3.1554-1557.2000.

文献 4

MacNeil A, Sarr AD, Sankalé JL, Meloni ST, Mboup S, Kanki P. Direct evidence of lower viral replication rates in vivo in human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infection than in HIV-1 infection. *J Virol.* 2007 May;81(10):5325-30. doi: 10.1128/JVI.02625-06.

文献 5

Adachi A, Gendelman HE, Koenig S, Folks T, Willey R, Rabson A, Martin MA. Production of acquired immunodeficiency syndrome-associated retrovirus in human and nonhuman cells transfected with an infectious molecular clone. *J Virol.* 1986 Aug;59(2):284-91. doi: 10.1128/JVI.59.2.284-291.1986.

文献 6

Nomaguchi M, Doi N, Adachi A. Virological characterization of HIV-2 vpx gene mutants in various cell systems. *Microbes Infect.* 2014 Aug;16(8):695-701. doi: 10.1016/j.micinf.2014.06.004.

文献 7

Nomaguchi M, Miyake A, Doi N, Fujiwara S, Miyazaki Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Yokoyama M, Sato H, Masuda T, Adachi A. Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of the HIV-1 pol gene modulate viral replication ability. *J Virol.* 2014 Apr;88(8):4145-60. doi: 10.1128/JVI.01859-13.

文献 8

Nomaguchi M, Doi N, Sakai Y, Ode H, Iwatani Y, Ueno T, Matsumoto Y, Miyazaki Y, Masuda T, Adachi A. Natural Single-Nucleotide Variations in the HIV-1 Genomic SA1prox Region Can Alter Viral Replication Ability by Regulating Vif Expression Levels. *J Virol.* 2016 Apr 14;90(9):4563-4578. doi: 10.1128/JVI.02939-15.

文献 9

Santio NM, Koskinen PJ. PIM kinases: From survival factors to regulators of cell motility. *Int J Biochem Cell Biol.* 2017 Dec;93:74-85. doi: 10.1016/j.biocel.2017.10.016.

文献 10

Panchal NK, Sabina EP. A serine/threonine protein PIM kinase as a biomarker of cancer and a target for anti-tumor therapy. *Life Sci.* 2020 Aug 15;255:117866. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117866.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Koma Takaaki, Odaka Tokifumi, Lee Sung-Il, Doi Naoya, Kondo Tomoyuki, Okuma Kazu, Fujisawa Jun-ichi, Adachi Akio, Nomaguchi Masako	4. 巻 3
2. 論文標題 Humanized mice generated by intra-bone marrow injection of CD133-positive hematopoietic stem cells: application to HIV-1 research	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Virology	6. 最初と最後の頁 1192184-1192184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fviro.2023.1192184	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 Koma Takaaki, Doi Naoya, Quoc Le Bao, Kondo Tomoyuki, Adachi Akio, Nomaguchi Masako	4. 巻 -
2. 論文標題 HIV-1 replication and pathogenicity: lessons from macaque-tropic HIV-1 derivatives	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 IntechOpen	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) 10.5772/intechopen.1002899	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 Koma Takaaki, Doi Naoya, Le Bao Quoc, Kondo Tomoyuki, Ishizue Mitsuki, Tokaji Chiaki, Tsukada Chizuko, Adachi Akio, Nomaguchi Masako	4. 巻 15
2. 論文標題 Involvement of a Rarely Used Splicing SD2b Site in the Regulation of HIV-1 vif mRNA Production as Revealed by a Growth-Adaptive Mutation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 2424-2424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v15122424	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 Koma Takaaki, Doi Naoya, Suzuki Akihiro, Nagamatsu Kentaro, Yasui Takeshi, Yasutomo Koji, Adachi Akio, Minamikawa Takeo, Nomaguchi Masako	4. 巻 2
2. 論文標題 Major target for UV-induced complete loss of HIV-1 infectivity: A model study of single-stranded RNA enveloped viruses	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Virology	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/fviro.2022.994842	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 Koma Takaaki, Yokoyama Masaru, Kotani Osamu, Doi Naoya, Nakanishi Nina, Okubo Hayato, Adachi Shun, Adachi Akio, Sato Hironori, Nomaguchi Masako	4. 巻 95
2. 論文標題 Species-Specific Valid Ternary Interactions of HIV-1 Env-gp120, CD4, and CCR5 as Revealed by an Adaptive Single-Amino Acid Substitution at the V3 Loop Tip	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Virology	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/JVI.02177-20	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 Koma Takaaki, Doi Naoya, Takemoto Mai, Watanabe Kyosuke, Yamamoto Hideki, Nakashima Satoshi, Adachi Akio, Nomaguchi Masako	4. 巻 13
2. 論文標題 The Expression Level of HIV-1 Vif Is Optimized by Nucleotide Changes in the Genomic SA1D2prox Region during the Viral Adaptation Process	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Viruses	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) 10.3390/v13102079	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12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 土肥直哉、駒貴明、Le Quoc Bao、薦田奈々子、一ノ宮匠海、近藤智之、足立昭夫、野間口雅子
2. 発表標題 PIMキナーゼによるウイルス産生抑制の解析
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 近藤智之、駒貴明、土肥直哉、Le Quoc Bao、薦田奈々子、一ノ宮匠海、足立昭夫、野間口雅子
2. 発表標題 Vpr領域内の同義1塩基置換がHIV-1複製に及ぼす影響
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 駒貴明、Le Quoc Bao、土肥直哉、薦田奈々子、一ノ宮匠海、近藤智之、足立昭夫、野間口雅子
2. 発表標題 HIV-1集合におけるGag-NCとgRNAの相互作用の意義
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Le Quoc Bao、横山勝、土肥直哉、一ノ宮匠海、薦田奈々子、近藤智之、足立昭夫、小谷治、佐藤裕徳、野間口雅子、駒貴明
2. 発表標題 R5指向性HIV-1複製におけるV3内ITI tripletモチーフの重要性
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小谷治、駒貴明、神庭圭佑、森田泰基、横山勝、土肥直哉、近藤智之、永田崇、足立昭夫、片平正人、野間口雅子、佐藤裕徳
2. 発表標題 未知のHIV-1 Gag二量体制御単位の同定と構造生物学的性質決定
3. 学会等名 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土肥直哉、駒貴明、後藤田知里、長坂麻里、近藤智之、足立昭夫、野間口雅子
2. 発表標題 HIV-1遺伝子発現におけるvpr塩基配列の重要性
3. 学会等名 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤智之、駒貴明、宇田川明郁、奥村希、足立昭夫、野間口雅子、土肥直哉
2. 発表標題 PIMによるHIV種特異的な遺伝子発現制御機構の解析
3. 学会等名 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 駒貴明、小谷治、土肥直哉、近藤智之、横山勝、足立昭夫、佐藤裕徳、野間口雅子
2. 発表標題 HIV-1 Gag-MAにおけるGag前駆体二量体化部位のウイルス学的解析
3. 学会等名 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 駒貴明、小谷治、土肥直哉、近藤智之、横山勝、足立昭夫、佐藤裕徳、野間口雅子
2. 発表標題 HIV-1 Gag MAのGag二量体化における役割の解明
3. 学会等名 日本エイズ学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤智之、駒貴明、足立昭夫、野間口雅子、土肥直哉
2. 発表標題 PIMキナーゼによるHIV型特異的な遺伝子発現調節の解析
3. 学会等名 日本エイズ学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 駒貴明, 礎光希, 塚田知寿子, 戸梶智耀, 足立昭夫, 野間口雅子, 土肥直哉
2. 発表標題 PIMキナーゼ阻害剤がHIV種特異的に複製に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第35回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 駒貴明, 土肥直哉, 塚田知寿子, 戸梶智耀, 礎光希, 足立昭夫, 野間口雅子
2. 発表標題 HIV-1 vpr塩基配列の同義一塩基置換がウイルス複製に与える影響
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021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	野間口 雅子 (NOMAGUCHI Masako) (80452647)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授 (16101)	

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