

日中韓フォーサイト事業 平成25年度 実施報告書

1. 拠点機関

日本側拠点機関：	東京女子医科大学
中国側拠点機関：	天津医科大学
韓国側拠点機関：	梨花女子大学校

2. 研究交流課題名

(和文)：難治性疾患の再生治療におけるナノバイオマテリアルと送達技術戦略

(交流分野：バイオマテリアル・ナノバイオテクノロジー)

(英文)：Nano-Biomaterials and Delivery Strategies in Regenerative Medicine for Intractable Diseases

(交流分野：biomaterial・nano-biotechnology)

研究交流課題に係るホームページ：<http://twins.twmu.ac.jp/a3foresight/>

3. 採用期間

平成25年 8月 1日～平成30年 7月 31日

(1年度目)

4. 実施体制

日本側実施組織

拠点機関：東京女子医科大学

実施組織代表者(所属部局・職・氏名)：医学部・学長・笠貫 弘

研究代表者(所属部局・職・氏名)：医学部・教授・大和雅之

協力機関：早稲田大学・国立循環器病研究センター・東海大学・長崎大学・岡山大学・北海道大学・九州大学

事務組織：東京女子医科大学 研究支援部 教育研究資金課

相手国側実施組織 (拠点機関名・協力機関名は、和英併記願います。)

(1) 中国側実施組織：中国国家自然科学基金委員会

拠点機関：(英文) Tianjin Medical University

(和文) 天津医科大学

研究代表者(所属部局・職・氏名)：(英文) School of Pharmacy・Dean・Victor C. Yang

協力機関：(英文) Fudan University, Tianjin University

(和文) 復旦大学、天津大学

(2) 韓国側実施組織：韓国研究財団

拠点機関：(英文) Ewha Womans University

(和文) 梨花女子大学校

研究代表者(所属部局・職・氏名)：(英文) Department of Pharmacy・Professor・Seung Jin Lee

協力機関：(英文) Yonsei University, Inje University, Pohang University of Science and Technology, Kyung Hee University, KIST・Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, Hanyang University, Sungkyunkwan University, Seoul National University, Inha University, Sunchon National University, Chungnam National University

(和文) 延世大学校、仁済大学校、浦項工科大学校、慶熙大学校、韓国科学技術研究院、韓国原子力医学院、漢陽大学校、成均館大学校、ソウル大学校、仁荷大学校、順天大学校、忠南大学校

5. 研究交流目標

5-1. 全期間を通じた研究交流目標

再生医療は今後の発展および産業化が期待されている先端医療分野のひとつであり、特に心臓、肝臓、軟骨等の再生を目的とした技術開発が各国の研究機関において精力的に進められている。さらに近年の幹細胞技術の躍進に伴い、細胞を用いた医療技術はその可能性を大きく広げている。一方、細胞を用いた再生治療の多くは、細胞懸濁液を患部に直接注入する方法をとっているが、移植細胞が患部に十分に生着しないこと、さらに血中に細胞を注入した場合、肺塞栓等のリスクが発生することが問題である。

このような中、東京女子医科大学岡野・大和らが確立した細胞シート技術は、現在最も有望な細胞移植および再生治療技術として注目されている。温度応答性培養皿を用いて作製されるシート状の細胞組織(細胞シート)はこれまでの細胞治療とは異なり、生化学的物性を維持した状態の細胞を移植できるため、細胞移植効率およびその治療効果を飛躍的に向上させることができ、これまでに角膜、心筋、食道、歯根膜、軟骨の臨床応用に成功している。そこで本事業では、細胞シート再生治療技術をベースにして、丸ごとの心臓や肝臓、神経の再生など、現在の再生治療では完全に克服できていない難治性疾患を対象とした次世代型再生治療に取り組む。具体的には、細胞シート/生体材料/生理活性分子の最適な組み合わせにより、治療効果を最大限に発揮するシステムの構築を目指す。天津医科大学のYang教授は様々な生理活性分子のデリバリーシステムを構築しており、梨花女子大学校のLee教授らの作製するスキャフォールドを利用すれば、標的部位に効率よく作用するデリバリーシステムを構築できると期待される。各研究機関で培った技術はいずれも再生医療技術を向上させるために大きな役割を果たすと考えられることから、本事業を通じて3カ国の技術を結集させることができれば、世界の再生医療研究に新しい方法論を提案することも可能である。細胞シートとスキャフォールドを組み合わせた新しいタイプの細胞/高分子材料に対して緻密に制御されたドラッグデリバリーシステムを組み込み、これらの相乗効果によってのみ実現できる難治性疾

患の治療技術確立を目指す。

5-2. 平成25年度研究交流目標

研究協力体制の構築：東京女子医科大学の研究グループは、天津医科大学 Yang 教授（中国側研究代表者）と梨花女子大学 Lee 教授（韓国側研究代表者）の両者とこれまでも長期に渡って密接な関係を築いてきており、本事業開始に先駆けて日中韓の3カ国の拠点大学間で国際共同研究に関する協定の締結を完了している。すでに東京女子医科大学への博士研究員の受け入れをはじめとする積極的な国際共同研究体制をスタートしている。本年度は、若手研究者の交換により人材交流と技術移転をより強化し、各拠点のコア技術の融合とその発展を推進する。また、事業に参画する各拠点の研究者を集結させ、研究の進捗状況と国際共同研究の実施計画を議論する会議を開催する。

学術的観点：本事業では、ナノ運搬体を駆使した遺伝子導入技術（中国拠点）および局所的な遺伝子/細胞デリバリーを実現する高分子スキャフォールド技術（韓国拠点）と融合することで、高度な細胞シート治療を実現するためのブレイクスルーを図り、これまで困難であった組織・臓器の再生医療の加速化を目的とする。特に十分量の自己細胞の採取が難しい組織・臓器の再生治療を行うためには、iPS細胞などの幹細胞から目的の細胞に分化・誘導させるのと同時に、その細胞を有効かつ安全に治療に供する方法を確立することが再生医療の普及において重要なカギとなる。さらにこれらの細胞組織を移植する部位において最適なタンパク質や遺伝子等を選定し、デリバリーシステムにうまく組み込むことができれば、幹細胞由来の細胞シートの効率的な移植を達成するとともに、幹細胞の効率的な分化誘導や血管誘導を促す特定タンパク質の分泌を促進することで、移植された細胞シートの治療効果を最大限に活用することが期待される。本年度は、小中動物実験およびヒト臨床試験を想定した適切な細胞ソースの選定（プライマリー細胞、iPS細胞、ES細胞など）をおこない、それぞれの細胞種を細胞シート化するための最適なプロトコルを確立する。これにより次年度以降、中国および韓国拠点のコア技術との融合を速やかに実現する。

若手研究者育成：日中韓の各拠点で研究交流セミナーおよび国際シンポジウムを実施し、若手研究者自身のグローバルな人的ネットワークの構築を図るとともに、国際的動向をキャッチしながら国際共同研究を強力に推進できる研究者の育成に取り組む。また、各拠点で大学院生や博士研究員など若手研究者のための短期スカラシップ制度を実施する。3カ国間で年間数名の若手研究者の交換を行い、各国の研究代表者および参加研究者の指導のもと、先駆的な再生医療研究に取り組んでもらう。

社会への貢献：日中韓フォーサイト事業のためのホームページを開設し、プロジェクト概要・研究活動・イベント案内について最新の情報を世界に向けて定期的に発信する。

6. 平成25年度研究交流成果

(交流を通じての相手国からの貢献及び相手国への貢献を含めてください。)

6-1 研究協力体制の構築状況

初年度は平成26年2月26日に本プログラムのキックオフミーティングを韓国ソウルで開催し、中国、韓国の研究代表者および研究協力者と顔合わせと交流を行った。当該ミーティングでは、プログラムの目標を確認するとともに5年間の研究交流活動計画について議論した結果、今後5年間のミーティング、国際シンポジウムの開催場所と時期、若手研究者交流の実施方法について合意した。平成26年度に国際シンポジウムを日本で開催する旨提案したところ、相手国である中国、韓国から承認された。また、平成26年2月27日開催の国際シンポジウムに参加し、各国から2人の研究メンバー研究発表を行い、日中韓の研究状況を共有した。

国内においては、ドラッグデリバリーシステム専門の片山佳樹教授（九州大学）や細胞レオロジー計測の岡嶋孝治教授（北海道大学）らとともに、温度応答性細胞培養表面の高分子構造に関する議論や細胞、細胞シートの物理的な特性について意見交換、ディスカッションを行い、従来技術では測定が困難であった高分子構造と機能や細胞の物理的定性与生理的機能について知見を得ることができた。

このような国内外における研究者交流を通じて、拠点形成活動を実施した。

6-2 学術面の成果

今後の小動物実験およびヒト臨床研究を想定した適切な細胞ソースの選定を行い、細胞シート作製条件の最適化を行った。具体的には培養皿表面の温度応答性高分子の固定化量および各種ヒト組織由来細胞（表皮角化細胞、皮膚線維芽細胞、大動脈外膜線維芽細胞、さい帯静脈血管内皮細胞、さい帯静脈血管内皮細胞、腎上皮細胞、骨格筋芽細胞）播種密度を最適化することで、市販の培養液で上記細胞種による細胞シート作製を確認した。一方、気管支上皮細胞、乳腺上皮細胞では細胞シート作製が困難であったことも確認し、細胞種により培養条件や培養表面の更なる最適化の必要性も見出した。また、ラット初代肝細胞シートの培養期間中の機能維持を図るための機能化温度応答性培養皿の設計、作製も行い、細胞シート作製および肝機能維持を達成することができた。

また、当該プログラムに関する研究成果を国際学会、国内学会において発表した。平成26年3月4日～6日開催の第13回日本再生医療学会総会では、細胞シートを用いた心筋、神経などの組織再生について発表を行った。平成26年3月26日～3月29日開催の18th Annual Regenerative Medicine Workshop at Hilton Headでは口頭発表の1つに採択され、現状の再生治療では難治性の肝臓の再生を目的とした、新規温度応答性培養基材による肝細胞シート作製の成果発表を行った。

6-3 若手研究者育成

博士課程大学院生、博士研究員をバイオマテリアル、細胞特性評価を最も得意とする協

力機関研究者と交流を通じ、個々の研究を加速させるだけでなく異分野への関心を持たせるような配慮のもとで指導した。また、国際交流としては助教クラスの研究スタッフをバイオマテリアル領域で著名な教授、准教授クラスとの日中韓の国際交流を通じ、日中韓の3カ国におけるプロジェクト運用、共同研究、国際交流が潤滑に行えるための拠点基盤を人的交流を通して整備した。本年度、開催したキックオフミーティング（平成26年2月26日（韓国、ソウル））において、学生レベルでの人的交流およびネットワーク形成を目的とした交換留学生を日中間、中韓間、日韓間で積極的に実施することにも改めて確認、合意した。今後、これらの研究交流活動を実施する上で重要な役割を担う各拠点のコンタクトパーソンも3カ国の合意のもとで決定した。

また、本プログラム期間中に大学院生が海外でポストを手に入れる事例もでてきた。

6-4 その他（社会貢献や独自の目的等）

本プログラムの特徴や研究成果を広く発信することを目的に、日中韓フォーサイト事業のための専用のホームページを開設した（<http://twins.twmu.ac.jp/a3foresight/>）。

また、本事業の直接的な支援を受けてはいないが、本拠点機関に所属するスタッフがテルモ科学技術振興財団の主催で「生命科学 DOKIDOKI 研究室・サイエンスカフェ 2013」において、中高生を対象に温度応答性細胞培養表面の特徴や作製した細胞シートの医療応用について紹介し、好評を得た。

6-5 今後の課題・問題点

日中韓の研究開始時期や研究費の運用ルールにおいて必ずしも統一されておらず、日本側の運用ルールを説明しながら相手国側の運用ルールを理解する必要があったため、この点において、多くの時間を費やした。運用ルールが三カ国間で異なるという認識が共有できてはいるが、交換留学等の人材交流が本格的に開始する前に、事務的な規定について、運用ルールの詳細な点について情報交換が必要であると認識している。

6-6 本研究交流事業により発表された論文

平成25年度論文総数 0本

相手国参加研究者との共著 0本

（※ 「本事業名が明記されているもの」を計上・記入してください。）

（※ 詳細は別紙「論文リスト」に記入してください。）

7. 平成25年度研究交流実績状況

7-1 共同研究

整理番号	R-1	研究開始年度	平成25年度	研究終了年度	平成27年度
研究課題名	(和文) 細胞シート作製のための最適なプロトコール探索 (英文) Investigation of optimized protocols for cell sheet fabrication				
日本側代表者 氏名・所属・職	(和文) 大和雅之・東京女子医科大学・教授 (英文) Masayuki Yamato・Tokyo Women's Medical University・Professor				
相手国側代表者 氏名・所属・職	(英文) Korea: Seung Jin Lee・Department of Pharmacy, Ewha Womans University・Professor China: Victor C. Yang・Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics Dean, School of Pharmacy, Tianjin Medical University・Professor and Director				
参加者数	日本側参加者数	25名			
	中国側参加者数	17名			
	韓国側参加者数	8名			
25年度の研究 交流活動	キックオフミーティングの開催(ソウル・2014年2月26日、27日) 本プログラムのキックオフミーティングをソウルで開催し、中国・韓国の研究代表者および研究協力者と顔合わせと交流を行った。研究交流活動の計画を議論し、今後3カ国間で開催するミーティングおよびシンポジウムの時期や研究者の交換留学の進め方、各国の窓口となる担当者を決定した。また、日本において国際シンポジウムを開催することを日本側から提案し、3国間で合意した。				
25年度の研究 交流活動から得 られた成果	3カ国間での研究体制について情報交換を行い、お互いの研究環境や研究体制、研究状況を知りえる場となった。また、メールベースでは議論、合意が難しかった年間活動計画についても話合うことができ、今後の研究活動を進める上で必要な課題、マイルストーンがクリアになり、研究課題へのアドバイス等が、より効果的に実施できると考えられる。				

7-2 セミナー

整理番号	S-1
セミナー名	(和文) 日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「“the first one-day meeting “」
	(英文) JSPS A3 Foresight Program “the first one-day meeting “
開催期間	平成 26 年 2 月 26 日 ~ 平成 26 年 2 月 27 日 (2 日間)
開催地 (国名、都市名、会場名)	(和文) 韓国、ソウル、梨花女子大学校
	(英文) Korea, Seoul, Ewha Womans University
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 大和雅之・東京女子医科大学・教授
	(英文) Masayuki Yamato・Tokyo Women’s Medical University・Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外で開催の場合)	(英文) Seung Jin Lee・Ewha Womans University・Professor

参加者数

派遣先 派遣	セミナー開催国 (韓国)	
	A.	B.
日本 〈人／人日〉	A.	5/ 10
	B.	1
韓国 〈人／人日〉	A.	6/ 12
	B.	30
中国 〈人／人日〉	A.	6/ 12
	B.	0
合計 〈人／人日〉	A.	17/ 34
	B.	31

A. 本事業参加者 (参加研究者リストの研究者等)

B. 一般参加者 (参加研究者リスト以外の研究者等)

※日数は、出張期間 (渡航日、帰国日を含めた期間) としてください。これによりがたい場合は、備考欄を設け、注意書きを付してください。

セミナー開催の目的	<p>日中韓の参加研究者のバックグラウンドについて紹介することにより、各国拠点機関の研究計画の確認およびそれに基づいた日中韓での協力体制の枠組みについてディスカッションすることを目的とした。また、本研究課題プログラムを推進することによって3カ国間に期待される医療研究分野への波及効果を各国のバイオマテリアル研究者に対して広く周知することを目的として開催した。</p>	
セミナーの成果	<p>各国からそれぞれの研究機関における研究の現状について報告を行い、日中韓における再生医療研究の現状・特色を知るよい機会として活用した。特に、韓国における再生医療を含む医療材料の基礎研究とその産業化について膨大なデータを基に発表がなされ、韓国における医療製品の現状を総括した有意義なものであった。また、中国における本プログラムの報道等について中国側から報告があり、本プログラムの注目度の高さを伺わせるものであった。日本側からも詳細な研究成果の報告を行い、当研究機関におけるこれまでの実績および今後の展望について議論した。以上のように、各国からの報告を通じて中国・韓国のバイオマテリアル研究者と研究の状況を共有し、各国それぞれの目標設定および5年間を通じての期待される研究交流について議論した。</p>	
セミナーの運営組織	韓国側拠点機関 Seung Jin Lee, Hyukjin Lee (梨花女子大学校)	
開催経費分担内容と金額	日本側	内容 外国旅費 金額 731,750 円
	中国側	内容 外国旅費・その他
	韓国側	内容 会場運営費・海外滞在者宿泊費・謝金・その他

7-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

所属・職名 派遣者名	派遣・受入先 (国・都市・機関)	派遣期間	用務・目的等
東京女子医科大学・教授 清水達也	岡嶋孝治 (札幌・北海道大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	細胞シートの物理的計測に関するディスカッション
東京女子医科大学・講師 秋山義勝	岡嶋孝治 (札幌・北海道大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	細胞シートの物理的計測に関するディスカッション
東京女子医科大学・講師 小林純	岡嶋孝治 (札幌・北海道大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	細胞シートの物理的計測に関するディスカッション
東京女子医科大学・助教 高橋宏信	岡嶋孝治 (札幌・北海道大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	細胞シートの物理的計測に関するディスカッション
東京女子医科大学・博士研究員 福守一浩	岡嶋孝治 (札幌・北海道大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	細胞シートの物理的計測に関するディスカッション
東京女子医科大学・講師 中山正道	片山佳樹 (福岡・九州大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	バイオマテリアル表面設計に関するディスカッション
東京女子医科大学・講師 長瀬健一	片山佳樹 (福岡・九州大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	バイオマテリアル表面設計に関するディスカッション
東京女子医科大学・博士研究員 秋元淳	片山佳樹 (福岡・九州大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	バイオマテリアル表面設計に関するディスカッション
東京女子医科大学・研究生 松坂直樹	片山佳樹 (福岡・九州大学)	H26. 1. 22 ～ H26. 1. 23	バイオマテリアル表面設計に関するディスカッション
東京女子医科大学・講師 秋山義勝	Seung Jin Lee (韓国・ソウル・梨花女子大学校)	H26. 2. 26 ～ H26. 2. 27	日中韓の研究ディスカッション・シンポジウムでの発表
東京女子医科大学	Seung Jin	H26. 2. 26 ～	日中韓の研究ディスカッション

学・講師 中山正道	Lee（韓国・ソウル・梨花女子大学校）	H26. 2. 27	
東京女子医科大学・講師 小林純	Seung Jin Lee（韓国・ソウル・梨花女子大学校）	H26. 2. 26 ～ H26. 2. 27	日中韓の研究ディスカッション
東京女子医科大学・講師 長瀬健一	Seung Jin Lee（韓国・ソウル・梨花女子大学校）	H26. 2. 26 ～ H26. 2. 27	日中韓の研究ディスカッション・シンポジウムでの発表
東京女子医科大学・助教 高橋宏信	Seung Jin Lee（韓国・ソウル・梨花女子大学校）	H26. 2. 26 ～ H26. 2. 27	日中韓の研究ディスカッション
東京女子医科大学・教授 清水達也	京都	H26. 3. 4 ～ H26. 3. 6	第 13 回日本再生医療学会にて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・講師 秋山義勝	京都	H26. 3. 3 ～ H26. 3. 6	第 13 回日本再生医療学会での情報収集
東京女子医科大学・講師 小林純	京都	H26. 3. 3 ～ H26. 3. 6	第 13 回日本再生医療学会にて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・講師 長瀬健一	京都	H26. 3. 3 ～ H26. 3. 6	第 13 回日本再生医療学会にて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・助教 高橋宏信	京都	H26. 3. 5 ～ H26. 3. 6	第 13 回日本再生医療学会にて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・博士研究員 岩宮貴紘	京都	H26. 3. 3 ～ H26. 3. 6	第 13 回日本再生医療学会にて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・博士研究員 菊池鉄太郎	京都	H26. 3. 3 ～ H26. 3. 6	第 13 回日本再生医療学会にて成果発表・情報収集

東京女子医科大学・博士研究員 鶴山晋平	京都	H26.3.3 ~ H26.3.6	第13回日本再生医療学会にて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・講師 長瀬健一	つくば	H26.3.24 ~ H26.3.25	International Symposium on Smart Materialsにて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・講師 小林純	Hilton Head (USA)	H26.3.25 ~ H26.3.31	18th Annual Regenerative Medicine Workshop at Hilton Headにて成果発表・情報収集
東京女子医科大学・講師 秋山義勝	熊本	H26.3.28 ~ H26.3.30	日本薬学会第134年会にて情報収集
東京女子医科大学・講師 中山正道	熊本	H26.3.28 ~ H26.3.30	日本薬学会第134年会にて情報収集
東京女子医科大学・講師 長瀬健一	熊本	H26.3.28 ~ H26.3.30	日本薬学会第134年会にて情報収集

8. 平成25年度研究交流実績総人数・人日数

8-1 相手国との交流実績

派遣先 派遣元	四半期	日本	韓国	中国	アメリカ(第三国)	合計
日本	1		()	()	()	0/0 (0/0)
	2		()	()	()	0/0 (0/0)
	3		()	()	()	0/0 (0/0)
	4		5/10 ()	()	1/7 ()	6/17 (0/0)
	計		5/10 (0/0)	0/0 (0/0)	1/7 (0/0)	6/17 (0/0)
韓国	1	()		()	()	0/0 (0/0)
	2	()		()	()	0/0 (0/0)
	3	()		()	()	0/0 (0/0)
	4	()		()	()	0/0 (0/0)
	計	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
中国	1	()	()		()	0/0 (0/0)
	2	()	()		()	0/0 (0/0)
	3	()	()		()	0/0 (0/0)
	4	()	(6/12)		()	0/0 (6/12)
	計	0/0 (0/0)	0/0 (6/12)		0/0 (0/0)	0/0 (6/12)
	1	()	()	()		0/0 (0/0)
	2	()	()	()		0/0 (0/0)
	3	()	()	()		0/0 (0/0)
	4	()	()	()		0/0 (0/0)
	計	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)
合計	1	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	2	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	3	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	4	0/0 (0/0)	5/10 (6/12)	0/0 (0/0)	1/7 (0/0)	6/17 (6/12)
	計	0/0 (0/0)	5/10 (6/12)	0/0 (0/0)	1/7 (0/0)	6/17 (6/12)

※各国別に、研究者交流・共同研究・セミナーにて交流した人数・人日数を記載してください。(なお、記入の仕方の詳細については「記入上の注意」を参考にしてください。)
 ※本事業経費によらない交流についても、カッコ書きで記入してください。

8-2 国内での交流実績

1	2	3	4	合計
()	()	()	21/58 ()	21/58 (0/0)

9. 平成25年度経費使用総額

(単位 円)

	経費内訳	金額	備考
研究交流経費	国内旅費	1,577,740	国内旅費、外国旅費の合計は、研究交流経費の50%以上であること。
	外国旅費	1,892,160	
	謝金	0	
	備品・消耗品購入費	3,338,848	
	その他の経費	191,252	
	外国旅費・謝金等に係る消費税	0	
	計	7,000,000	研究交流経費配分額以内であること。
業務委託手数料		700,000	研究交流経費の10%を上限とし、必要な額であること。また、消費税額は内額とする。
合 計		7,700,000	