

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19390415

研究課題名（和文）

難治性尿路感染症対策としての抗バイオフィルム剤探索とその基盤技術の開発

研究課題名（英文）

Persistent biofilms in urinary tract infections -the development of novel methods for identifying antibiofilm agents-

研究代表者

上原 慎也（UEHARA SHINYA）

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：30379739

研究成果の概要（和文）： 難治性尿路バイオフィルム感染症の予防法および治療法の確立を主要な目的として研究を遂行した。本研究期間に、抗バイオフィルム剤探索のための *in vitro* および *in vivo* の新規実験モデル系は、再現性のある実験系として格段の進化を遂げた。これらの実験モデル系を使用して阻害候補化合物を評価した結果、緑膿菌性尿路バイオフィルム感染症に対するクオラムセンシング阻害剤の有用性ならびに抗菌薬との併用による新規治療法の可能性を示唆する結果が得られた。

研究成果の概要（英文）： In order to establish new strategies for prevention and therapy of persistent biofilms in urinary tract infections, we developed novel methods for identifying antibiofilm agents. In this study period, major technological advances on *in vitro* and *in vivo* models were made. The evaluated some potential agents yielded a compound which inhibited quorum sensing and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. A combination of the newly detected compound and antimicrobial agents is suggested as a novel therapeutic approach.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2008年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード： 難治性尿路感染症、日和見感染菌、バイオフィルム、抗バイオフィルム剤、スクリーニング、クオラムセンシング、*in vitro* 実験モデル系、*in vivo* 実験モデル系

1. 研究開始当初の背景

難治性の尿路バイオフィルム感染症は、細菌バイオフィルムが抗菌薬や生体側からの感染防御系に対して抵抗性であることに起

因する。生体の細菌バイオフィルムは、医学・歯学各科領域の枠を超えて総合的に理解されるべき病態であり、除菌が困難であるため感染が持続することとなる。今日の院内多

剤耐性菌は、“いわゆる重症例や意識障害患者、ならびに血液癌をはじめとする癌化学療法施行時における全身管理の一環として頻用される尿道留置カテーテル”と“カルバペネムや新世代セフェム剤の投与（多くは尿路感染症治療の目的でないもの）”によって無意識のうちに誘導され、交差感染として院内に蔓延している例が少なくない。このことは留置カテーテルに細菌バイオフィームが極めて高頻度に形成されることを意味しており、繰り返し使用される抗菌薬によって耐性化が進行し、院内感染の感染源となっている。そのような背景のなかで、尿路バイオフィーム感染症の予防と制御のための新しい治療法・医用材料・抗バイオフィーム剤の開発は重要な研究課題である。

2. 研究の目的

尿路バイオフィーム感染症に対する予防法および治療法の開発を目的として、リアルタイムイメージング（タイムラプス）が可能な *in vitro* および *in vivo* の新規実験モデル系を確立して、抗バイオフィーム剤の探索を行う。具体的には、クオラムセンシング（菌密度依存的遺伝子発現制御）機構の拮抗剤・阻害剤、ポリフェノール類の尿中代謝物、抗菌薬などの阻害候補化合物の評価（単独および併用）を行う。

3. 研究の方法

(1) 研究対象菌種

主に緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を用い、大腸菌 (*Escherichia coli*)、腸球菌 (*Enterococcus faecalis*)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) も用いた。

(2) 阻害候補化合物

- ① グラム陰性菌のクオラムセンシング機構をターゲットとした化合物
- ② ポリフェノール類の尿中代謝物
- ③ 抗菌薬は、レボフロキサシン (LVFX) およびホスホマイシン (FOM) を用いた。

(3) バイオフィーム形成阻害候補化合物のスクリーニング

新規スクリーニング法として、ペグ（細い短棒）付き 96 穴ポリスチレンマイクロプレートを使用した。使用菌株は緑膿菌 (*P. aeruginosa* OP14-210)、大腸菌 (*E. coli* 128) を用いた。人工尿を満たした 96 穴マイクロプレート内で培養（供試化合物添加および無添加）、48 時間後に各ペグに形成されたバイオフィームを 2%クリスタルバイオレットで染色し、95%エタノールに溶出して 570 nm の吸光度を測定、数値化した。

(4) 新規 *in vitro* 実験モデル系（キャピラリーフローセルシステム）

カテーテル留置複雑性尿路感染症患者由来の緑膿菌 *P. aeruginosa* OP14-210 株を用い、GFP (green fluorescent protein) をコードしたプラスミド pMF230 を OP14-210 株に導入して、*P. aeruginosa* OP14-210 (pMF230) 株を構築した（研究協力者：加藤純一・広島大学）。ガラスキャピラリー中に菌液を接種して、37°C、2 時間放置後、人工尿を 20 mL/hr で灌流させ、バイオフィームを形成させた。GFP 産生株が形成したバイオフィームは、共焦点レーザー走査型顕微鏡 (Zeiss LSM 510) あるいはオールインワン蛍光顕微鏡 (キーエンス BZ8000) で観察した。画像解析（3次元画像構築）には、Imaris (Bitplane) および MetaMorph (Molecular Devices) を用いた。

(5) 新規 *in vivo* 実験モデル系（リアルタイムイメージングシステム）

Caliper Life Sciences/Xenogen 社から購入した発光標識バクテリア [緑膿菌 (*P. aeruginosa* Xen5 & Xen41)、大腸菌 (*E. coli* Xen14)、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus* Xen29)] および蛍光標識緑膿菌 [*P. aeruginosa* OP14-210 (pMF230)] を用い、先端機器 IVIS imaging system (Xenogen 社) の感染症領域への応用性を検証した。IVIS での観察は、撮影時イソフルラン麻酔下で同一ラットまたはマウスを用い、経時的・経日的に行った。① 大腿部感染モデル (マウス)：ICR 系マウス (雄、5~6 週齢) を用い、シクロフォスファミドにより免疫不全状態を惹起させた。左大腿部に 10^6 または 10^5 cfu/0.1 mL/thigh の菌量で接種した。② 尿路バイオフィーム *in vivo* 感染症モデル (ラット・マウス)：SD 系ラット (雌、7~8 週齢)、ICR 系マウス (雌、6~7 週齢) を用いた。黒坂らの方法に従い、コイル状に形成したポリエチレンチューブを非侵襲的に麻酔下で膀胱内に留置後、アンピシリン (1 mg/mL) を 4 日間給水し、感染前日から絶水した。ラットまたはマウスの膀胱内に菌液 10^7 cfu/0.5 mL、 10^6 cfu/0.05 mL をそれぞれ経尿道的に接種し、4 時間尿道口をクランプした。

4. 研究成果

(1) バイオフィーム形成阻害候補化合物のスクリーニング

① 緑膿菌におけるクオラムセンシング機構の阻害剤として見出された16種類の化合物 (100, 250, 500 μ mol/L) を用い、人工尿中、緑膿菌性バイオフィーム形成に阻害効果を示す化合物を探索した。その結果、阻害効果を

有する化合物を5種類見出した。[共同研究者：菅 裕明教授（東京大学先端科学技術研究センター）五十嵐 潤（大塚化学株式会社）]
 ② クランベリーポリフェノール尿中代謝物に着目して、大腸菌性バイオフィーム形成に阻害効果を示す化合物を探索した。*o*-coumaric acid, *p*-coumaric acid, vanillic acid, ferulic acid および homovanillic acid は、比較的強いバイオフィーム形成抑制効果を示した。これらの化合物を2種類ずつ組み合わせで評価を行った結果、それぞれ単独の場合に比較して、より強いバイオフィーム形成抑制効果を示した。[共同研究者：伊東秀之准教授、波多野力教授（岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科）]

(2) 新規 *in vitro* 実験モデル系 (キャピラリーフローセルシステム) での評価

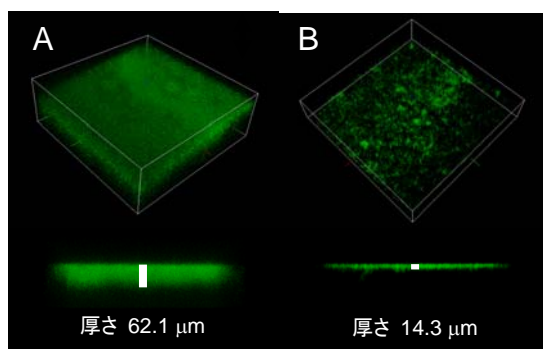


図 1 A: 供試化合物無添加 (72時間)

図 1 B: 供試化合物添加 (72時間)

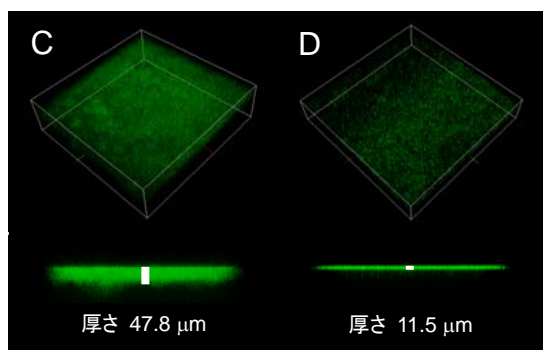


図 1 C: 供試化合物無添加 (48時間) + LVFX+FOM (24時間)

図 1 D: 供試化合物添加 (48時間) + 供試化合物&LVFX+FOM (24時間)

上記 (1) の①で見出したバイオフィーム阻害候補化合物 (100 μmol/L) を添加し、キャピラリー中に形成されたバイオフィームを共焦点レーザー走査型顕微鏡で観察した。その結果、阻害効果を明らかに認めたのは 1 種類であった (図 1 B)。その化合物を同様に 48 時間作用後、抗菌薬 (LVFX+FOM) と継続 24 時間併用すると阻害効果が増強した (図 1 D)。人工尿における浮遊菌 (*P. aeruginosa*

OP14-210 株) に対する LVFX と FOM の MIC は、それぞれ 8, 64 μg/mL であり、本実験には通常の臨床投与量で尿中に十分に到達する濃度、それぞれ 80, 192 μg/mL を使用した。

(3) 新規 *in vivo* 実験モデル系 (リアルタイムイメージングシステム) の確立

① マウス大腿部感染モデルにおいて、発光標識細菌 [緑膿菌 (*P. aeruginosa* Xen5 & Xen41)、大腸菌 (*E. coli* Xen14)、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus* Xen29)] の生菌数と IVIS 発光強度 (フォトン数) との関連性があることを確認した。図 2 に示したように、抗菌薬ピアペネム (BIPM) をマウス背部皮下に投与し、IVIS により治療効果を経時的に観察した。BIPM の投与量に応じて、マウス大腿部の発光強度の増減・消失のイメージが得られ、生菌数とフォトン数との関連性があることを確認した。

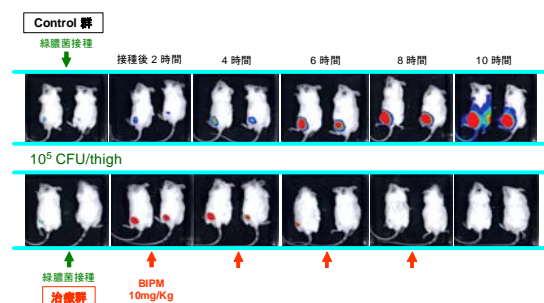


図 2 マウス大腿部感染モデル

(*P. aeruginosa* Xen5 を接種)

② ラット・マウスを用いた尿路バイオフィーム感染症モデルは、*P. aeruginosa* OP14-210 株を用いて再現性のある実験系として確立できた。図 3 に示したように、貯尿時には IVIS による発光標識緑膿菌 (*P. aeruginosa* Xen41) の *in vivo* 観察が可能であった。しかし、発光・蛍光標識細菌によって膀胱内留置ポリエチレンチューブ上に形成されたバイオフィームの発光・蛍光強度は、ラット・マウスいずれにおいても検出限界以下であった。なお、ポリエチレンチューブ付着バイオフィームの数値化には、クリスタルバイオレットによる染色法が簡便であり、生菌数との相関性があった。

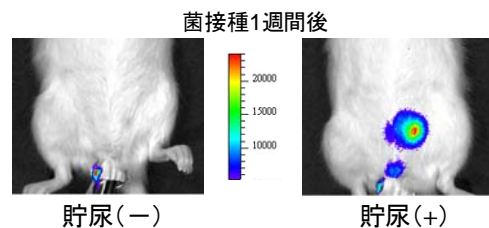


図 3 ラット尿路感染症モデル

(*P. aeruginosa* Xen41 を接種)

(4) 尿路感染症原因菌のバイオフィルム形成能および耐性遺伝子の伝達性

① 緑膿菌 (*P. aeruginosa*)

緑膿菌が分離された尿路感染症 166 例について後ろ向き研究を行った結果、カテーテル留置症例や発熱症例から分離された緑膿菌は、多剤耐性化傾向を示し、バイオフィルム形成能が高かった。多剤耐性緑膿菌 (MDRP) のなかでもメタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 産生緑膿菌は、ほぼ全ての抗菌薬に高度耐性を示す傾向が強く、薬剤耐性遺伝子がプラスミド上にコードされていることが多い。そこで、尿路由来 MBL 産生緑膿菌に着目し、バイオフィルム形成能および耐性遺伝子の伝達性に関する検討を行った。その結果、MBL 産生緑膿菌株は非産生緑膿菌株に比較して、有意に高いバイオフィルム形成能を示した。接合伝達実験では、イミペネム耐性を比較的高い伝達頻度 ($10^4 \sim 10^6$) で伝達する菌株の存在が確認された。

② 大腸菌 (*E. coli*)

大腸菌が尿路においてバイオフィルムを形成する事実は既に報告されている。そこで、キノロン耐性大腸菌に着目して、基礎的・臨床的検討を行った結果、キノロン耐性大腸菌が分離された尿路感染症のほとんどの症例は複雑性尿路感染症であり、キノロン系薬を含む抗菌薬の使用歴のある症例を多く認めた。伝達性の薬剤耐性遺伝子を保有している ESBL (基質拡張型β-ラクタマーゼ) 産生大腸菌の分離頻度は増加傾向にあった。キノロン耐性大腸菌株と感受性大腸菌株の 2 群間の比較において、バイオフィルム形成能に有意差を認めなかったが、キノロン耐性大腸菌株のなかに、バイオフィルム形成能が顕著に高い株が存在した。

③ 腸球菌 (*E. faecalis*)

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) のアウトブレイクが明らかとなった施設において分離された VanA 型 *E. faecalis* を用い、基礎的検討を行った結果、バイオフィルム形成能が顕著に高い株が存在した。接合伝達実験により、これらの株がバンコマイシン耐性遺伝子やゲンタマイシン耐性遺伝子をコードする高頻度伝達プラスミド保有株であることを確認した。

(5) 考察

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学分野では、平成 14 年度に、新規バイオフィルム実験モデル系 (*in vitro*) としてのキャピラリーフローセルシステムを導入した。本実験系は、GFP 産生株がキャピラリー中に形成したバイオフィルムを共焦点

レーザー走査型顕微鏡あるいは蛍光顕微鏡でリアルタイム (タイムラプス) に観察して、抗バイオフィルム剤の評価を行うときに最も威力を発揮する。本研究期間 (平成 19~21 年度) には、画像解析のために最新のソフトウェアを導入したことで、図 1 に示した画像が得られた。つまり、バイオフィルム形成阻害候補化合物の評価方法が格段に進化し、有用な 3 次元情報を得ることが可能となった。

一方、新規バイオフィルム実験モデル系 (*in vivo*) の確立を目指して、先端機器 IVIS imaging system の感染症領域への応用性を検証した。まずは、発光標識バクテリアによるマウス大腿部感染モデルを確立し、IVIS を用いて経時的・経日的に発光強度を測定することで、抗菌薬や生体活性化候補物質の効果判定と生菌数測定とに関連性があることを明らかにした。本実験系は、同一個体での非侵襲的な経時的・経日的観察が可能であり、使用動物数の低減化に資する。これらの成果に基づいて、ラット・マウスを用いた尿路バイオフィルム感染症モデルの作製を試みた。その結果、*P. aeruginosa* OP14-210 株を用いて再現性のある実験系として確立できたものの IVIS を用いて発光・蛍光標識バクテリアがポリエチレンチューブ上に形成したバイオフィルムを *in vivo* で発光・蛍光検出することは困難であった。今後の課題として、尿路バイオフィルム感染症モデルに使用可能な新規発光標識株の構築を行う必要がある。

近年、細菌の集団状態を感知し、遺伝子発現を制御するクオラムセンシング機構という概念が、細菌の世界に導入された。クオラムセンシングはバイオフィルム形成にも関わっており、この機構の解明はバイオフィルム対策への活路を拓くものと期待されている。本研究課題において、緑膿菌性尿路バイオフィルム感染症に対するクオラムセンシング阻害剤の有用性ならびに抗菌薬との併用による新規治療法を示唆する価値ある研究成果を得ることができた。

国内外では、緑膿菌をはじめとするグラム陰性菌およびグラム陽性菌に関してもクオラムセンシング機構の研究は進展しており、その阻害剤の開発研究がなされている。クオラムセンシング機構の阻害剤が尿路バイオフィルム感染症の予防や治療に役立てられるのかどうかは、今後の課題であるが、一種の阻害剤で、病原性や薬剤抵抗性に関与する遺伝子の発現を同時に制御できるような抗バイオフィルム剤の開発が期待されている。

本研究期間には、院内感染対策上問題にな

っている多剤に耐性を示す尿路感染症原因菌（緑膿菌、大腸菌、腸球菌）に着目して、バイオフィーム形成能および薬剤耐性遺伝子の伝達性について検討した。その結果、バイオフィーム形成能が極めて高く高頻度に耐性遺伝子を伝達する菌株の存在を確認した。バイオフィーム形成能が高い菌株は、環境中に長期に生息し、伝達性の耐性遺伝子を獲得している可能性がある。耐性遺伝子の伝播・拡散防止のためには、バイオフィームを形成させないための医療・療養環境の管理が重要であり、今後の課題として、バイオフィーム内での耐性遺伝子の伝達を阻止するための方策を確立することも重要である。

本研究期間の主たる研究成果として、抗バイオフィーム剤探索のための *in vitro* および *in vivo* の実験モデル系が格段に進化した。しかし、尿路バイオフィーム *in vivo* リアルタイム実験モデル系については課題を残した。今後、本研究課題で確立した先駆的な *in vitro* および *in vivo* のバイオフィーム実験モデル系をさらに改良・進化させることにより、標的医療としての抗バイオフィーム療法の開発を目指す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

- ① 山本満寿美、狩山玲子、光畑律子、石井亜矢乃、上原慎也、渡辺豊彦、公文裕巳：メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィーム形成能および *bla_{IMP-1}* 遺伝子の伝達性に関する検討. *Bacterial Adherence & Biofilm* 23: 71-75, 2010 (査読無)
- ② Wada K, Kariyama R, Mitsuata R, Uehara S, Watanabe T, Monden K, Kumon H : Experimental and clinical studies on fluoroquinolone-insusceptible *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infections from 1994 to 2007. *Acta Medica Okayama* 63(5): 263-272, 2009 (査読有)
- ③ 狩山玲子、堀 賢司、落合和彦、光畑律子、上原慎也、渡辺豊彦、門田晃一、公文裕巳：リアルタイム *in vivo* イメージングシステムでの緑膿菌マウス大腿部感染モデルに対するピアペナムの有効性評価. 緑膿菌感染症研究会講演記録 43: 118-122, 2009 (査読無)
- ④ 山本満寿美、狩山玲子、光畑律子、公文裕巳、千田好子：メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィーム形成能および分子疫学的解析. 日本環境感染学会 24(2): 85-92, 2009 (査読有)
- ⑤ Tashiro Y, Nomura N, Nakao R, Senpuku H, Kariyama R, Kumon H, Kosono S, Watanabe H, Nakajima T, Uchiyama H : Opr86 is essential for viability and is a potential candidate for a protective antigen against biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 190(11): 3969-3978, 2008 (査読有)
- ⑥ 狩山玲子、光畑律子、村谷哲郎、松本哲朗、門田晃一、公文裕巳：バンコマイシン耐性腸球菌 (*VanA*型 *Enterococcus faecalis*) のバイオフィーム形成能に関する基礎的検討. *Bacterial Adherence & Biofilm* 21: 89-95, 2008 (査読無)
- ⑦ 門田晃一、狩山玲子、公文裕巳：緑膿菌性尿路感染症：どう対峙するか. 緑膿菌感染症研究会講演記録 42: 27-30, 2008 (査読無)
- ⑧ Mikuniya T, Kato Y, Ida T, Maebashi K, Monden K, Kariyama R, Kumon H : Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms with a combination of fluoroquinolones and fosfomycin in a rat urinary tract infection model. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 13(5): 285-290, 2007 (査読有)
- ⑨ 狩山玲子、大西令子、伊東秀之、吉田隆志、波多野 力、苔口 進、光畑律子、和田耕一郎、門田晃一、公文裕巳：大腸菌性バイオフィーム形成抑制活性を有するクランベリ一尿中代謝物の探索. *Bacterial Adherence & Biofilm* 20: 129-133, 2007 (査読無)
- ⑩ 狩山玲子、門田晃一、公文裕巳：緑膿菌性尿路感染症対策としての抗バイオフィーム剤探索とその基盤技術の開発. 緑膿菌感染症研究会講演記録 41: 39-43, 2007 (査読無)

[学会発表] (計 34 件)

- ① 上原慎也、サンゴ状結石と尿路バイオフィーム(パネルディスカッション:サンゴ状結石の最新治療)、第 98 回日本泌尿器科学会総会、2010/4/23、いわて県民情報交流センター (盛岡市)
- ② 狩山玲子、緑膿菌性尿路バイオフィーム *in vivo* 感染症モデルへのリアルタイムイメージング装置の応用性に関する検討.

- 第44回緑膿菌感染症研究会、2010/2/12、東邦大学医療センター大森病院（東京都大田区）
- ③ Kariyama Reiko : Biofilm-forming capabilities and molecular epidemiology of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. ASM Conference on Biofilms 2009, 2009/11/17, Cancun, Mexico
- ④ 能勢宏幸、岡山大学泌尿器科における最近5年間の尿路感染症分離菌変遷および薬剤感受性について、第20回尿路感染症研究会、2009/11/21、東京慈恵会医科大学（東京都港区）
- ⑤ 狩山玲子、尿路由来メタロー β -ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィーム形成能および耐性遺伝子伝達性の検討、第83回日本感染症学会総会、2009/4/23、京王プラザホテル（東京都新宿区）
- ⑥ 狩山玲子、緑膿菌マウス大腿部感染モデルに対するピアペネムの有効性評価ーリアルタイム *in vivo* イメージングシステムー、第56回日本化学療法学会西日本支部総会、2008/12/7、広島国際会議場（広島市）
- ⑦ 佐古真一、尿路感染症由来緑膿菌のバイオフィーム形成能と臨床的背景の関連性の検討、第56回日本化学療法学会西日本支部総会、2008/12/7、広島国際会議場（広島市）
- ⑧ Uehara Shinya : (Special Lecture) The role of urological intervention in complicated UTI. 5th Asian Association of UTI & STD Forum, 2008/11/29, Taipei, Taiwan
- ⑨ 佐々木典子、クランベリーポリフェノール尿中代謝物の大腸菌性バイオフィーム形成抑制効果、日本農芸化学会中四国支部第22回講演会、2008/9/13、鳥取大学農学部（鳥取市）
- ⑩ 石井亜矢乃、尿路由来メタロー β -ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィーム形成能および分子疫学的検討、第22回 Bacterial Adherence & Biofilm 学術集会、2008/7/4、兵庫県立夢舞台国際会議場（淡路市）
- ⑪ 狩山玲子、日本で分離されたバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の分子疫学的解析（シンポジウム：多剤耐性菌における分子疫学的解析の最前線）、第82回日本感染症学会総会、2008/4/18、サンラポーむらくも（松江市）
- ⑫ 狩山玲子、緑膿菌性バイオフィームに対するフルオロキノロン系薬とホスホマイシンの併用効果に関する新知見、第55回日本化学療法学会西日本支部総会、2007/10/31、神戸国際会議場（神戸市）
- ⑬ 和田耕一郎、尿路感染症由来フルオロキノロン耐性大腸菌に関する検討、第55回日本化学療法学会西日本支部総会、2007/10/30、神戸国際会議場（神戸市）
- ⑭ 門田晃一、難治性尿路感染症の治療戦略（シンポジウム：感染症成立機構と化学療法ー難治性感染症の克服ー）、第55回日本化学療法学会西日本支部総会、2007/10/30、神戸国際会議場（神戸市）
- ⑮ 狩山玲子、本邦で分離された VanA 型 *Enterococcus faecalis* (VRE) の薬剤感受性および薬剤耐性遺伝子の伝達性に関する検討、第55回日本化学療法学会総会、2007/6/1、仙台国際センター（仙台市）
- ⑯ Uehara Shinya : Relationships between biofilm-forming capacities of *Pseudomonas aeruginosa* isolates and clinical background/antimicrobial resistance in urinary tract infections. 102nd Annual Meeting, American Urological Association, 2007/5/20, Anaheim, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上原 慎也 (UEHARA SHINYA)
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号：30379739

門田 晃一 (MONDEN KOICHI)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号：60291473 (H19:研究代表者)

(2) 研究分担者

狩山 玲子 (KARIYAMA REIKO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：40112148

(3) 連携研究者

渡邊 豊彦 (TOYOHICO WATANABE)
岡山大学・岡山大学病院・講師
研究者番号：30432644

(4) 研究協力者

公文 裕巳 (KUMON HIROMI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：30144760

菅 裕明 (SUGA HIROAKI)
東京大学・先端科学技術研究センター・教授
研究者番号：00361668

Philip S. Stewart
モンタナ州立大学（米国）・バイオフィ
ーム工学研究所・教授