

令和 4 年 8 月 30 日現在

機関番号：82603

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22644

研究課題名（和文）新規ナノ粒子ワクチン～口腔細菌由来外膜小胞の形成機構の理解とその活用

研究課題名（英文）Novel nano particle vaccine | Biogenesis and medical application of outer membrane vesicles

研究代表者

中尾 龍馬（Nakao, Ryoma）

国立感染症研究所・細菌第一部・主任研究官

研究者番号：10370959

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：細菌由来外膜小胞（OMVs）を用いた新しいワクチンプラットフォームの創出を視野に、OMVsの産生機構の解明、及び動物モデルにおけるOMVsの安全性とワクチン効果の検討を行った。まず、口腔細菌のOMVs産生機構に関しては、抗菌物質により誘導されたOMVs産生が殺菌プロセスに寄与する可能性が示唆された。また、大腸菌のOMVs産生に關与する小遺伝子*kil*が同定され、その他にも、培養液中にグリシンを添加して低毒性OMVsを大量に生産する技術が確立された。さらに、異なる二つの歯周病原細菌由来OMVsの混合経鼻ワクチンの中枢神経系での安全性とワクチン効果（細菌の排除効果）が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られたOMVs産生機構の理解に基づき、OMVsワクチンの生産効率に寄与する技術の開発応用が期待される。また実際に、マウスモデルでの歯周病原細菌由来OMVs経鼻ワクチンの効果と安全性が明らかにされた。今後は、歯周病のみならず、様々な感染症に対するワクチン開発研究においても、OMVsが利用できる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we investigated a mechanism of outer membrane vesicle (OMV) production by *Porphyromonas gingivalis* (Pg) and *Escherichia coli* (Ec). First, we found that Pg has two different modes of the OMV production: one is a mode occurring during normal bacterial growth, and the other is a way of OMV production induced by antimicrobials. We suggest that Pg OMVs induced by antimicrobials may be involved in deprivation of two outer membrane transporter proteins, RagA and RagB in the bactericidal process. Subsequently, we identified a cryptic plasmid gene, *kil*, involved in the production of OMVs in Ec. In addition, we discovered a breakthrough strategy in mass production of OMVs with low endotoxin content, by adding glycine to culture broth. Furthermore, in vivo vaccine studies using OMVs of two periodontopathic bacteria, Pg and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), revealed both the safety and efficacy of this divalent OMV vaccine via intranasal route.

研究分野：細菌学・分子生物学

キーワード：外膜小胞 ワクチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、人類の脅威となる感染症が世界各地で発生、地球規模で急速に拡大する事例が増えている。ワクチンを含めた包括的かつ多面的な感染症対策は、喫緊の課題となっている。研究代表者は、様々な細菌由来 OMVs を研究する中で、多くの OMVs の場合、わずか 1 µg の少量のマウス鼻腔投与により、血中の IgG 産生を強く誘導する事に加え、注射の免疫では得られない S-IgA が全身の粘膜分泌物 (涙液、唾液、鼻腔洗浄液、気管支肺胞洗浄液、便抽出液) として産生されることを明らかにしてきた。したがって、呼吸器系・腸管系・泌尿器系の粘膜上皮を感染定着の場として利用する様々な病原体に対し、OMVs の経鼻ワクチンは高い防御効果を発揮するものと考えられる。しかしながら、OMVs の産生機序の詳細は不明であり、また異なる細菌由来 OMVs の構成、OMVs が保有する生物学的特徴 (生理活性、免疫学的活性、病理学的特性) など包括的な理解には至っていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、OMVs の産生機構を解明すること、また OMV ワクチンの応用可能性について動物モデルを用いて検討することである。最終的には、OMVs の産生機構の深い理解に基づき、OMVs ワクチンプラットフォームの構築を目指す。

3. 研究の方法

3-A-1. 供試菌株と培養条件

Pg は、ブレインハートインフュージョン(BHI)にヘミンとメナジオンを添加した培地を用い、嫌気条件下で培養した。主に ATCC 33277 株を実験に使用した。

3-A-2. 供試した食用植物由来抽出物

92 種類の食用植物由来抽出物を、Pg 増殖阻害試験を指標にスクリーニングし、選抜されたフェネルシード(学名 *Foeniculum vulgare*)の n-Hexane 抽出物を、主に実験に供試した。

3-A-3. Pg 増殖阻害試験

96 穴プレートを用いた Pg の増殖阻害試験を行った。抽出物の分画と本試験を繰り返し、責任化合物の精製を行った。

3-A-4. 高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)と電界放出形走査電子顕微鏡(FE-SEM)

HS-AFM と FE-SEM には、BIXAM(オリンパス株式会社)と Regulus 8220 (Hitachi)を用いた。

3-A-5. Pg の細胞分画解析

N-ラウロイルサルコシンによる細菌膜の differential lysis を利用し、細胞分画を行った。

3-A-6. ジンジパイン阻害試験

Boc-Val-Pro-Arg-MCA と Boc-Val-Leu-Lys-MCA をジンジパインの基質に用いた生化学的試験を行った。また、口腔扁平上皮癌細胞株 Ca9.22 の形態観察を WSL-1800-B タイムラプスイメージングシステム (アトー) により実施した。

3-A-7. 高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)と電界放出形走査電子顕微鏡(FE-SEM)

HS-AFM と FE-SEM による OMVs の形態観察には、それぞれ BIXAM リアルタイムイメージングシステム (オリンパス) と Regulus 8220 (日立ハイテク)を使用した。HS-AFM の Pg OMVs 産生家庭の使用例が図 1 に示された。

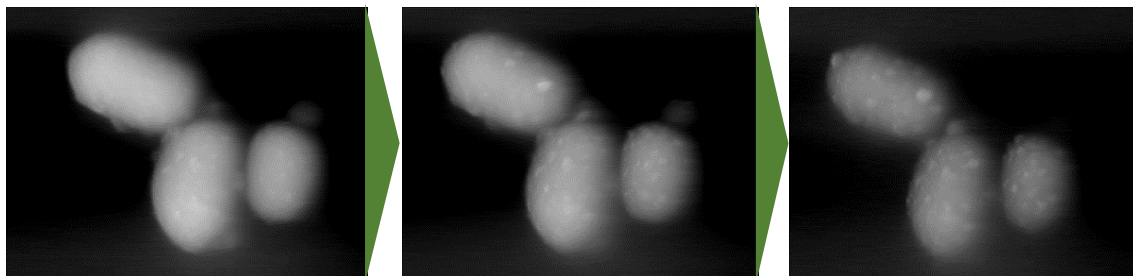


図 1. BIXAM リアルタイムイメージングシステム (オリンパス) 使用例

Pg ATCC 33277 株に食品由来化合物 Y 添加時のナノスケールバイオイメーキング。経時的に膜小胞が産生されていく様子を観察する事ができる。

3-B-1. 供試菌株と培養、プラスミド

LB や M9 を基礎培地とし、好気条件下で Ec を培養した。主に BW25113 株とそのアイソジェニック変異株を実験に供試した。ColE1 プラスミドの誘導体である pNTR-SD をベースに、

さらなる誘導体を作製し、実験に供試した。

3-B-2. バイオフィルムアッセイ

96 穴プレートなどを用いたバイオフィルムアッセイを行った。

3-B-3. OMVs の回収

培養上清をフィルター濾過後の濾液を超遠心分離して得られた沈査として回収、使用した。

3-B-4. 大腸菌の細胞分画解析

N-ラウロイルサルコシンによる細菌膜の differential lysis を利用し、細胞分画を行った。

3-C-1. 供試菌株と培養

プロバイオティクス大腸菌 Nissle 1917 株のべん毛欠損株(Δ flhD)を作製し、実験に供試した。LB を基礎培地とし、添加するグリシンの濃度を変えて好気条件下で培養した。

3-C-2. 透過型電子顕微鏡(TEM)と FE-SEM

TEM と FE-SEM 観察には、それぞれ H-7700 (Hitachi) と Regulus 8220 (Hitachi) を用いた。

3-C-3. 大腸菌の細胞分画解析

N-ラウロイルサルコシンによる細菌膜の differential lysis を利用し、細胞分画を行った。

3-C-4. OMVs のタンパク・脂質・LPS 解析

膜小胞中のタンパクは、ブラッドフォード法で定量、SDS-PAGE でプロファイリングした。膜小胞中の脂質と LPS (Lipid A) は、それぞれ FM4-64 試験とリムラス試験で定量した。

3-D-1. 供試菌株と培養、プラスミド

BHI を基礎培地とし、嫌気条件下で Pg や Aa を培養した。主に Pg 33277 株と Aa Y4 株を実験に使用した。

3-D-2. OMVs の回収

培養上清をフィルター濾過後の濾液を超遠心分離して得られた沈査として回収、使用した。

3-D-3. in vitro 免疫活性試験

マウスマクロファージ様細胞 J774.1 に OMVs 添加による IL-6, IL-12, TNF- α の発現レベルの変化を、リアルタイム PCR(細胞内 mRNA) と サンドイッチ ELISA(分泌タンパク質) により調べた。

3-D-4. マウスモデル実験

6 及び 9 週齢時の BALB/c マウスに Pg 及び AaOMVs の経鼻免疫を行い、免疫後の血液や唾液、鼻腔洗浄液を採取し、それぞれの細菌に特異的な抗体産生量を全菌体 ELISA によって評価した。感染実験モデルでは、免疫及び非免疫マウスの口腔に Pg, Aa の生菌を接種後、経時的に口腔内を拭った綿球に含まれる細菌数をリアルタイム PCR により定量した。

4 . 研究成果

4-A. Pg OMV 産生機構の解明

Pg に対する増殖阻害活性を指標に、92 種類の食用植物由来抽出物についてスクリーニングした。その結果、フェネルシード (*Foeniculum vulgare*) のヘキササン抽出物(HEF)に最も強い Pg 増殖阻害活性を認めた。HS-AFM と FE-SEM による形態学的解析の結果、HEF は OMVs の過剰産生を誘導しつつ、溶菌を促すことが明らかとなった。興味深いことに、HEF 処理により、RagA/RagB に富む OMVs が菌体外に放出され、Pg の栄養獲得に必須な 2 つの外膜トランスポータータンパク質、RagA と RagB が菌体外膜から奪われることが判明した。さらに、HEF はジンジパインに対して阻害活性を示し、その結果、口腔上皮細胞のラウンディングと培養プレートからの剥離を阻止した。HEF に含まれる抗菌性、およびジンジパイン阻害活性を担う化合物として、ペトロセリン酸を精製、単離した。以上より、Pg OMVs の産生様式として、通常の細菌の増殖過程で産生される様式に加えて、抗菌物質により誘導されて産生される様式が存在が証明された。また、抗菌物質による OMVs 産生促進が、殺菌プロセスに関与する可能性が示唆された。

4-B. OMVs 産生に寄与する小プラスミド遺伝子 *kil*

pColE1 は、大腸菌を含む腸内細菌科細菌に高頻度に保有されるものであり、また今日まで様々な pColE1 誘導体がクローニングベクターとして作製され、遺伝子工学領域において幅広く活用されている。本研究では、pColE1 内の遺伝子 *kil* が、OMVs の産生に関与する因子、およびバイオフィーム形成因子として機能することを見出した。Kil は大腸菌の外膜と内膜の両方に局在し、双方の膜を不安定化させ、その結果、OMVs の過剰産生やバイオフィーム過形成を引き起こすことが明らかとなった。

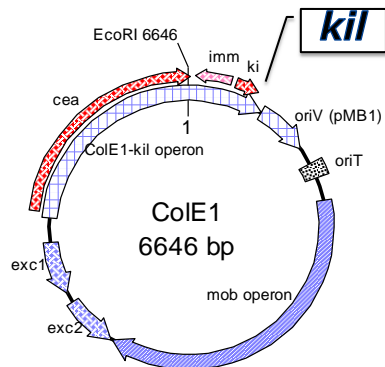


図 2. ColE1 プラスミドの遺伝子マップ

普遍的プラスミド pColE1 には、遺伝子 *kil* が含まれている。Kil タンパク質は、グラム陰性菌の外膜と内膜に局在することにより、細菌の膜小胞産生、バイオフィーム形成に関与する。

4-C. 安価に低毒性の OMVs を大量に生産する技術の開発

人に使用できる唯一のプロバイオティクス大腸菌である Nissle 1917 (EcN) 株の安全・安心面での優位性に着目し、本株のべん毛欠損株 (EcN Δ flhD) を作成し、この培養上清よりべん毛を含まない純度の高い OMVs を回収した。インフルエンザ HA 抗原に対する抗体産生を指標とした経鼻ワクチンモデルマウス実験により、EcN Δ flhD が産生する OMVs の優れた粘膜アジュバント効果が明らかとなった。また培地にグリシンを添加することで、エンドトキシン活性が約 1/8 に減少した OMVs を大量に回収できることが明らかとなった。さらに、本手法は、大腸菌のみならず、様々なグラム陰性・陽性細菌から膜小胞を大量に回収できることが明らかとなった。

4-D. 歯周病ワクチン研究 : Pg と Aa の OMVs 併用経鼻投与による免疫活性とワクチン効果

主要な歯周病原細菌 Pg と Aa の培養上清から、それぞれ OMVs を得て、これらの免疫活性を評価した。Pg 及び Aa OMVs は共に、J774.1 細胞の IL-6, IL-12, TNF- α の発現を添加量依存的に誘導した。Pg OMVs によるこれらのサイトカイン誘導活性は、Aa OMVs の約 1/1,000 であり、顕著に低かった。また、両 OMVs の併用による相乗効果は見られなかった。一方、Pg 及び Aa OMVs を併用してマウスに経鼻免疫すると、血中、口腔内、鼻腔内において、Pg と Aa それぞれの菌体に特異的な抗体が多く産生された。さらに、マウスへの Pg と Aa の生菌による口腔感染実験が行われた。未免疫のマウスと比較して、Pg 及び Aa OMVs の経鼻免疫を行ったマウスでは、Pg 及び Aa の両方とも、24 時間後の口腔内クリアランスが有意に向上した。以上より、Pg 及び Aa OMVs の粘膜ワクチンで、歯当該細菌による口腔感染を予防できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Satoru Hirayama and Ryoma Nakao	4. 巻 13
2. 論文標題 Glycine significantly enhances bacterial membrane vesicle production: a powerful approach for isolation of LPS-reduced membrane vesicles of probiotic Escherichia coli	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbial Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1162-1178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-0939-2_15	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 Tomoyo Nakamura, Yusuke Iwabuchi, Satoru Hirayama, Naoki Narisawa, Fumio Takenaga, Ryoma Nakao, Hidenobu Senpuku	4. 巻 149
2. 論文標題 Roles of membrane vesicles from Streptococcus mutans for the induction of antibodies to glucosyltransferase in mucosal immunity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbial pathogenesis	6. 最初と最後の頁 104260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.micpath.2020.104260. Epub 2020 Jun 15	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 Ryoma Nakao and Takao Ueno	4. 巻 7
2. 論文標題 Effects of oral moisturizing gel containing propolis following head and neck radiotherapy: randomized controlled pilot trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BDJ Open	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41405-021-00068-3	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 Hirayama Satoru, Nakao Ryoma	4. 巻 2210
2. 論文標題 Intranasal Vaccine Study Using Porphyromonas gingivalis Membrane Vesicles: Isolation Method and Application to a Mouse Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 157 ~ 166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-0939-2_15	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 Satoru Hirayama, Ryoma Nakao	4. 巻 13
2. 論文標題 Glycine Significantly Enhances Bacterial Membrane Vesicle Production: A Powerful Approach for Isolation of LPS-reduced Membrane Vesicles of Probiotic Escherichia Coli	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microb Biotechnol	6. 最初と最後の頁 1162-1178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1751-7915.13572	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 Senpuku H, Nakamura T, Iwabuchi Y, Hirayama S, Nakao R, Ohnishi M	4. 巻 24
2. 論文標題 Effects of Complex DNA and MVs With GTF Extracted From Streptococcus mutans on the Oral Biofilm	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24173131	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 Senpuku H, Tuna EB, Nagasawa R, Nakao R, Ohnishi M.	4. 巻 14
2. 論文標題 The Inhibitory Effects of Polypyrrole on the Biofilm Formation of Streptococcus Mutans	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0225584	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 Nakao R, Senpuku H, Ohnishi M, Takai H, Ogata Y.	4. 巻 1
2. 論文標題 Effect of topical administration of propolis in chronic periodontitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10266-020-00500-4	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 平山悟、吉益由莉、中尾龍馬	4. 巻 54
2. 論文標題 高速原子間力顕微鏡を用いた細菌の形態変化の観察 プロポリスが歯周病原細菌Porphyromonas gingivalisに及ぼす抗菌作用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 顕微鏡/KENBIKYO	6. 最初と最後の頁 72-76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ryoma Nakao, Takao Ueno	4. 巻 7
2. 論文標題 Effects of oral moisturizing gel containing propolis following head and neck radiotherapy: randomized controlled pilot trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BDJ Open	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41405-021-00068-3.	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 Nakao Ryoma, Ikeda Tsuyoshi, Furukawa Soichi, Morinaga Yasushi	4. 巻 10
2. 論文標題 Curry Leaf Triggers Cell Death of P. gingivalis with Membrane Blebbing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 1286 ~ 1286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pathogens10101286	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 Iwabuchi Yusuke, Nakamura Tomoyo, Kusumoto Yasuka, Nakao Ryoma, Iwamoto Tsutomu, Shinozuka Osamu, Senpuku Hidenobu	4. 巻 9
2. 論文標題 Effects of pH on the Properties of Membrane Vesicles Including Glucosyltransferase in Streptococcus mutans	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 2308 ~ 2308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms9112308	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 Sasaki Yuki, Hirayama Satoru, Nakao Ryoma	4. 巻 71
2. 論文標題 Scanning electron microscopy of <i>Escherichia coli</i> encapsulated in a spacerized graphene sandwich	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 175 ~ 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfac010	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 Yoshino Nanami, Ikeda Tsuyoshi, Nakao Ryoma	4. 巻 13
2. 論文標題 Dual Inhibitory Activity of Petroselinic Acid Enriched in Fennel Against <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 816047
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2022.816047	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 Hirayama Satoru, Nakao Ryoma	4. 巻 2414
2. 論文標題 Glycine Induction Method: Effective Production of Immunoactive Bacterial Membrane Vesicles with Low Endotoxin Content	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 10.1007/978-1-0716-1900-1_13.	6. 最初と最後の頁 207 ~ 226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1900-1_13	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 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Ryoma Nakao, Satoru Hirayama, Iwabuchi Yusuke, Makoto Ohnishi
2. 発表標題 Probiotic <i>Escherichia coli</i> Membraned Vesicles Carrying Pneumococcal Capsular Polysaccharides: An In Vivo Study of intranasal Vaccines Using Safe and immunogenic Nanoparticles.
3. 学会等名 12th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平山悟、中尾龍馬
2. 発表標題 グリシンによる細菌メンブレンベシクル産生の誘導とその特性
3. 学会等名 生物工学会Webシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平山悟、中尾龍馬
2. 発表標題 グリシンにより誘導された細菌メンブレンベシクルの特性解析 歯周病細菌ベシクルワクチンの粘膜アジュバント開発等に向けて
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中尾龍馬
2. 発表標題 粘膜免疫を強く誘導する細菌由来メンブレンヴェシクル
3. 学会等名 NIID/futureセミナー「ワクチン開発研究の現状と展望」（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高原翠夏人、平山悟、中尾龍馬、二又裕之、田代陽介
2. 発表標題 バイオフィルム由来膜小胞による免疫応答促進（学術奨励賞）
3. 学会等名 2020年度日本農芸化学会中部支部
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中尾龍馬
2. 発表標題 細菌由来メンブレンヴェシクル:その優れた特性を活用したワクチン開発
3. 学会等名 第94回日本細菌学会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉野七海、中尾龍馬
2. 発表標題 P. gingivalis の膜小胞産生誘導及び迅速な殺菌効果を示すフェンネル抽出物
3. 学会等名 第94回日本細菌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥田真由, 尾花望, 奥脇響, 中尾龍馬, 泉福英信, 野村暢彦
2. 発表標題 ウェルシュ菌が放出するメンブレンベシクルを介した宿主免疫誘導の解析
3. 学会等名 第94回日本細菌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口 雄大 , 中尾 龍馬 , 富田 修平
2. 発表標題 BCG 由来メンブレンヴェシクルを用いた結核ワクチン開発研究
3. 学会等名 第94回日本細菌学会
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名 N. Yoshino, T. Ikeda, R. Nakao
2 . 発表標題 Dual Inhibitory Effects Of Fennel Seeds Against Porphyromonas Gingivalis
3 . 学会等名 World Microbe Forum (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 Nakao R, Iwabuchi Y, Kimura S, Hirayama S, Morino S, Suzuki M, Ohnishi M.
2 . 発表標題 Intranasal vaccine development using probiotic E. coli-derived membrane vesicles carrying pneumococcal capsular polysaccharides
3 . 学会等名 15th Vaccine Congress (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 Takehiro Yamaguchi, Noriaki Samukawa, Ryoma Nakao and Shuhei Tomita
2 . 発表標題 Development of anti-TB vaccine using mycobacterial membrane vesicles
3 . 学会等名 EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 Yusuke Iwabuchi, Tomoyo Nakamura, Yasuka Kusumoto, Ryoma Nakao, Tsutomu Iwamoto, Osamu Shinozuka, Hidenobu Senpuku
2 . 発表標題 Effect of initial pH conditions on the membrane vesicles produced by Streptococcus mutans
3 . 学会等名 EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomoyo Nakamura, Naoki Narisawa, Fumio Takenaga, Ryoma Nakao, and Hidenobu Senpuku
2. 発表標題 Study on glucosyltransferase of Streptococcus mutans
3. 学会等名 EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okuda Mayu, Obana Nozomu, Okuwaki Hibiki, Nakao Ryoma, Senpuku Hidenobu, Nomura Nobuhiko
2. 発表標題 Effects of mucosal immunization of Clostridium perfringens membrane vesicles on humoral immunity and gut microbiota
3. 学会等名 EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Minato Takahara, Satoru Hirayama, Ryoma Nakao, Hiroyuki Futamata, Yosuke Tashiro
2. 発表標題 Characterization of immunomodulatory membrane vesicles derived from Pseudomonas aeruginosa biofilm (Fee Waiver Award)
3. 学会等名 EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryoma Nakao
2. 発表標題 Prospective vaccine strategy using bacterial membrane vesicles delivered into nasal cavity
3. 学会等名 EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryoma Nakao, Tsuyoshi Ikeda
2. 発表標題 Inhibitory activity of mahanimbine against Porphyromonas gingivalis
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryoma Nakao, Hiroaki Kobayashi, Yusuke Iwabuchi, Yusuke Sasaki, Madeleine Ramstedt, Satoru Hirayama, Makoto Ohnishi
2. 発表標題 外来性莢膜多糖を発現するプロバイオティクス大腸菌が作る膜小胞ワクチンの特性評価
3. 学会等名 第15回 日本ワクチン学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 メンブレンヴェシクル	発明者 中尾龍馬、庄子幹 郎、中山浩次	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-080136	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	泉福 英信 (Senpuku Hidenobu) (20250186)	日本大学松戸歯学部・感染免疫学・教授 (32665)	
研究分担者	平山 悟 (Hirayama Satoru) (70778555)	新潟大学・歯学系・助教 (13101)	

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1件

国際研究集会 EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications	開催年 2021年～2021年
---	--------------------

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			
スウェーデン	Umea University			