

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03861

研究課題名(和文) 歯周病原細菌外膜小胞の産生機構と遠隔臓器における慢性炎症・発がん関連の解明

研究課題名(英文) Periodontopathic bacterial outer membrane vesicles: Biogenesis and relation to development of chronic inflammation and carcinogenesis

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) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：凍結割断及び走査型電子顕微鏡を用いて、Porphyromonas gingivalis (Pg)の菌体内の詳細な構造を調べる手法が確立された。外膜小胞(OMVs)の内部構造を可視化する手法が確立されつつある。Pgに抹茶を添加するとOMVsと類似した構造体が菌体の表面に形成された。マウス尾静脈投与モデルを用いた研究により、Pgの菌体は血液脳関門BBBを通過できないが、OMVsはBBBを通過して神経変性疾患を誘発する可能性が示唆された。唾液中のPgの総菌数や全細菌に対するPgの占有比率について、患者のがんが発生した臓器別で比べると、有意差はないが、乳がん患者で高い傾向が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PgおよびPg由来OMVsは、口腔のみならず全身の健康に影響を与える可能性がある。本研究では、OMVsの産生機構、構造生物学に関する知見が蓄積された。また動物や人を対象としたPg OMVsに関する研究が推進された。PgのOMVsに関する包括的な研究によって、OMVsと慢性疾患・がんの関連解明の糸口となるような複数の成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：To observe the detailed structures of inside cells of Porphyromonas gingivalis (Pg), we established a combinational method of freeze fracture (FF) and scanning electron microscopy (SEM). Similar approach using the combination of FF and SEM for Pg outer membrane vesicles (OMVs) is on-going. OMV-like structures were formed on the surface of Pg when matcha green tea was added to Pg cells. In a mouse model study Pg cannot cross the blood-brain barrier (BBB), whereas OMVs likely cross the BBB and induce neurodegenerative diseases. Comparison of the total number of Pg bacteria in saliva and the ratio of Pg to total bacteria by the organ in which the patient's cancer occurred showed a trend toward higher number/rate in breast cancer patients, although no statistically significant difference was observed.

研究分野：細菌学

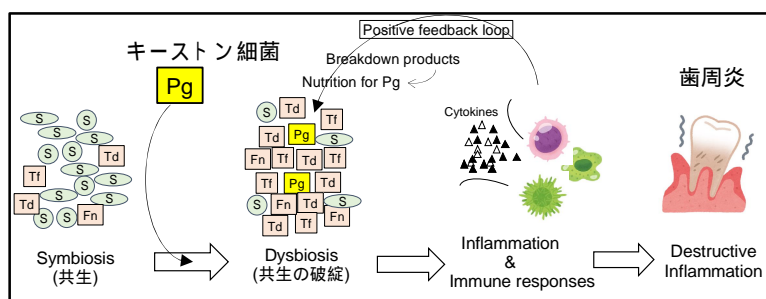
キーワード：Outer membrane vesicles Porphyromonas gingivalis

## 1. 研究開始当初の背景

歯周病はバイオフィルムに起因する慢性炎症を本態とする口腔疾患であり、成人が歯を失う最大の原因となっている。近年は、歯周病と様々な全身疾患との関連性を示唆する研究が数多く報告され、歯周病を制御することの意義がさらに高まっている。

歯周ポケット内に形成されるバイオフィルムを構成する細菌の中でも、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) は口腔のディスバイオーシス (dysbiosis) を誘発して、歯周病の病態形成に関与すると考えられている。Dysbiosis とは、共生 (symbiosis) の対義語であり、微生物の共生関係の破綻を意味する。免疫の恒常性の維持には、常在微生物のバランスが深く関与する。Dysbiosis が引き金となる疾患の例として、歯周病の他、炎症性腸疾患、肥満、糖尿病などの慢性疾患、生活習慣病、がんなどが挙げられる。

Pg は外膜小胞 (OMVs) と呼ばれる微粒子を菌体外へ放出する。Pg の OMVs は、アニオン性リポ多糖 (A-LPS)、ジンジパイン、線毛等の病原因子を含み、宿主細胞に対する傷害性や免疫誘導活性など様々な生物学的活性を示すことが明らかになっている。Pg が放出した OMVs は口腔疾患のみならず、口腔内から消化管、脈管または気道を経て全身に運ばれ直接的に、あるいは口腔の dysbiosis を介して間接的に、持続的な炎症・免疫応答を惹起して、口腔から離れた遠隔臓器の慢性炎症やがんの発症や進展に関与する可能性がある。



**Fig. 1. Keystone pathogen hypothesis**  
キーストン細菌 がトリガーとなり dysbiosis から慢性炎症・歯周組織の破壊へ進行するという仮説は、2010年代から Hajishengallis G. (Univ. Pennsylvania) らにより提唱されている。Pg のマウスへの口腔感染により、口腔や腸内細菌叢の構成が変化することが報告されている (Maekawa T et al. 2014)(Nakajima M et al. 2015)。

## 2. 研究の目的

Pg OMVs の生物学の包括的な理解を目指し、下記の A~D に取り組んだ。

- A) Pg の菌体や OMVs の構造、特にこれらの内部構造・構成についての詳細は不明である。本研究では、凍結割断 (freeze fracture: FF)法と電界放出型走査顕微鏡 (FE-SEM) を併用した新規の観察手法の確立し、Pg や OMVs の断面や内部の様子をナノメートルの分解能で観察することを目指した。
- B) Pg を標的とした歯周病治療薬開発に向けて、食品抽出物コレクションのスクリーニングを行った。その結果、抹茶が Pg の増殖を阻害することが明らかとなった。抹茶抽出物の Pg 菌体構造へ影響、及び薬理作用機序の解明、抹茶に含まれる Pg の増殖阻害活性を有する化合物の同定、歯周病患者を対象とした抹茶の含嗽による歯周病原細菌への効果、治療効果について検討した。
- C) 歯磨きや摂食時にでさえ、口腔細菌が血管内に入り一過性の菌血症になることが知られているが、血中に入った Pg OMVs がどのような臓器に到達するのか、また蓄積するのか、明らかにされていない。マウスを用いて、Pg OMVs の尾静脈注射後の血行動態を理解することを目指した。
- D) 近年、歯周病原細菌の口腔感染と、膵がん、口腔・咽頭がんとの関連性が報告されているが、その因果関係やメカニズムは不詳である。また、口腔に感染した Pg の遺伝学的背景や病原性を含めた形質が、担がん患者と非担がん患者、また異なる臓器のがん患者で異なるかどうかは調査されていない。本研究では、がん患者の口腔の微生物叢のプロファイリングを行った。

## 3. 研究の方法

### (A1) 菌体、および OMVs のサンプルブロック作製

Pg ATCC 33277 株を 37°C、48 時間、嫌気条件下で液体培養し、得られた培養液から菌体、および OMVs のサンプルブロックを下記の通り作製した。

### <菌体>

菌体の包埋材には寒天を用いた。Pg の培養液から OD<sub>600</sub>=30 の Pg 菌液を調整し、10% 寒天と等量混合後、直ちに 4 mm 角柱の型に入れて固化させた。包埋された菌体を 4%パラホルムアルデヒド (PFA) 溶液中で浸漬固定し、サンプルブロックを完成した。

### <OMVs>

OMVs の包埋材にはゼラチンを用いた。Pg の培養上清の超遠心分離後の沈渣として OMVs を回収した。OMVs 溶液 (1.0 μg/mL) にゼラチン粉末 (50 mg/mL) を加えて溶解、4 mm 角柱の型に入れて冷却、固化させた。包埋後の OMVs は、4% PFA 溶液中で浸漬固定し、サンプルブロックを完成した。

### (A2) FF、FE-SEM、および免疫 FE-SEM

Pg の菌体および OMVs の各サンプルブロックは、エタノール脱水後、液体窒素中で凍結させ、剃刀により FF を行い、FE-SEM 解析に供試、さらに、A-LPS 抗体と金コロイド標識二次抗体による免疫反応後に FE-SEM 解析に供試した。

### (B1) 抹茶

In vitro 研究試験用に水-アセトン(1:1) 溶媒にて抹茶抽出物を得た。この粗抽出から、ポリフェノール類などの化合物を単離した。

### (B2) Pg の FE-SEM と HS-AFM 観察

(A1)と同じ方法で Pg ATCC 33277 株を培養し、抹茶抽出物添加後の Pg の形態変化や凝集の様子を FE-SEM および高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) を用いて観察した。

### (B3) Pg 自家凝集試験

Pg ATCC 33277 株 (野生株) およびその線毛変異株 3 株 (FimA 欠損株、Mfa1 欠損株、FimA と Mfa1 の二重欠損株) を使用した。PBS で OD<sub>600</sub>=1 に調整した菌液に、抹茶粗抽出液を添加し vortex を 30 秒混合し、懸濁液を 4°C で静置して 3 時間、その上清の濁度 (OD<sub>600</sub>) の推移を経時的に測定し、自家凝集活性の指標とした。

### (B4) 歯周病への茶洗口による効果の検討 (図 2)

歯周基本治療を終えた中等度以上の歯周炎を有する患者を対象に、麦茶粉末、抹茶、アズレン顆粒の三種類のいずれかの含嗽剤に割り当てた。被験者には、一日二回朝晩、毎日、1 か月間、含嗽を依頼した。介入前後の唾液を採取し、Proteinase K と DNeasy (キアゲン) を用いて DNA を抽出した。介入前後の唾液 DNA を鋳型に、リアルタイム PCR を用いて各種口腔細菌の定量を行った。歯周病臨床パラメータの推移を調べ、抹茶など各含嗽による歯周組織への効果を調べた。

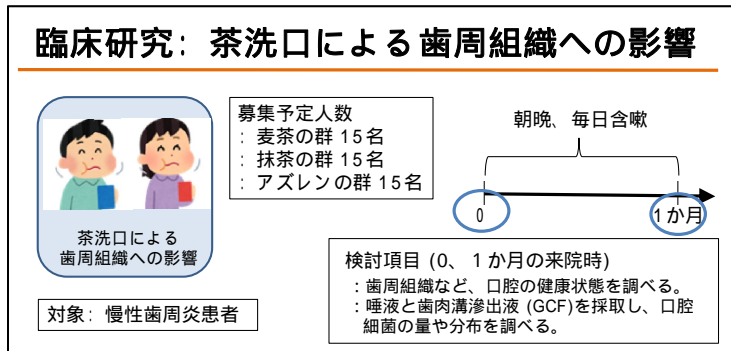


Fig. 2. 臨床研究：茶洗口による歯周組織の影響

下記の適格条件を満たす被験者に対し、日本大学松戸歯学部歯周病科 (小方頼昌教授) にて実施された。

1. PPD  $\geq 5$  mm の歯牙を有する
2. 3ヶ月以内に抗菌薬の服用無し
3. 喫煙経験なし
4. アレルギーなし
5. 20歳以上

臨床研究登録番号 UMIN000043182。

### (C1) マウスへの Pg 菌体および OMVs の静脈内投与と臓器からの DNA 抽出

BALB/c マウスに対し、三種混合麻酔薬 (メドミジン (ドミトール)+ミダゾラム (ドルミカム)+ブトルファノール (ベトルファール)) による全身麻酔下に、その尾静脈内へ OMVs を投与した。48 時間後に安楽死処置を施し、心臓、脾臓、腎臓、膀胱、下肢、肝臓、肺、血液、脳、胆嚢を摘出した。摘出した臓器をバイオマッシャー (ニッピ) ですり潰し、Proteinase K と DNeasy を用いて DNA を抽出した。

### (C2) 臓器からの菌および OMVs の検出：リアルタイム PCR

Pg の OMVs には多くの DNA を含むこと (Nakao R. et al. 2016) から、Pg 特異的プライマーを用いた Pg OMVs の高感度検出が可能である。各臓器から抽出した DNA を鋳型として、TaqMan 法によるリアルタイム PCR に供試した。各臓器中に含まれる Pg 菌数及び Pg OMVs 量を算出した。

#### (D1) がん患者の口腔細菌叢

国立がん研究センター中央病院歯科を受診したがん患者から唾液を回収し、(B4)と同じ方法でDNAを抽出した。口腔細菌のリアルタイムPCR解析、次世代シーケンサーによる菌叢解析を行った。

#### 4. 研究成果

##### (A)

菌体のFF後のFE-SEM観察では、断面が露出した菌体と露出していない菌体の両方を同時に観察することができた。FF後の免疫FE-SEM (Ab: 抗アニオン性多糖 [A-PS] 抗体)では、菌体表面や菌体断面の細胞表層 (エッジ) にA-PSが局在すること (図3A)、またウエスタンブロットでは、内膜と外膜画分、及びOMVsには確認されたが、細胞質とペリプラズム画分には検出されなかった (図3B)。以上より、FFと免疫FE-SEMを併用することにより、Pg分子の細胞内局在性を可視化する事に成功した。

OMVsの観察については、現在まで、断面が露出したOMVs、及びその内部構造が観察されている (図3C)。今後は、OMVsのFE/免疫FE-SEM法により、OMVs内の分子局在を調べる予定である。

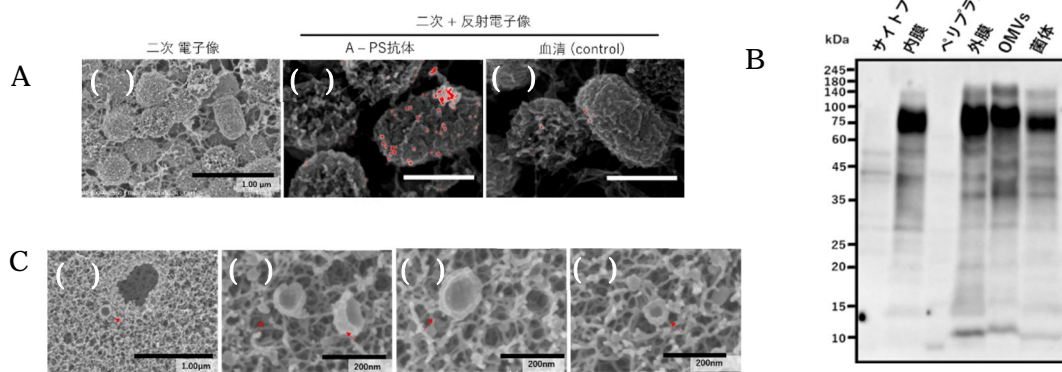


Fig. 3

[A] Pg菌体FF後の免疫反応後のFE-SEM像。(i)弱拡大の二次電子像。Bar: 1  $\mu$ m。( ) ( ) 強拡大二次電子像と反射電子像の重ね合わせた像。(左はA-LPS抗体、右はコントロールに使用した未免疫のマウス抗体) Image Jで金粒子を赤色で検出した。Bars: 300 nm.  
[B] A-LPS抗体を用いたウエスタンブロット。A-LPSは、全菌体、OMVs、外膜、及び内膜画分に検出された。  
[C] OMVsのFFとFE-SEM。( ) 弱拡大像。Bar: 1.0  $\mu$ m、( ) ~ ( ) 異なる3つの視野の強拡大像。Bars: 200

(B) 抹茶粗抽出物をPgに添加すると、Pg菌体から放射状に伸びる線毛が失われ、菌体の表層に微粒子の形成が認められた (図4)。また、菌体は凝集し、観察に使用したポリLリジンコートされたガラス表面への付着性が著しく低下した (図4)。さらに、抹茶粗抽出物とPgを混合すると、Pg野生株とMfa1変異株は強く凝集し、FimA変異株及びFimAとMfa1二重変異株は凝集しなかった。以上より、FimA線毛依存的にPgを凝集させることが明らかとなった。抹茶粗抽出物から9つの抹茶ポリフェノールを単離した。ポリフェノール種としては、Epigallocatechin-gallate、Epigallocatechin、Epicatechin-gallate、Epicatechinの順に多かった。9つポリフェノールは全て、野生株を凝集させ、各ポリフェノールの凝集誘導活性に差は認められなかった。Pgの増殖阻害効果については、EpigallocatechinとEpigallocatechin-Gallate、Gallocatechin-gallateに強い増殖阻害活性を認めたが、ガロイル基を有さないEpicatechinやEpicatechin-gallateには増殖阻害活性を認めなかった。Pgの菌体表層の大きな構造変化 (図4) とともに、各種バイオアッセイにより、菌体の膜の流動性・透過性の低下を認めた。

茶洗口の効果を調べる臨床研究では、抹茶の含嗽により、唾液中のPg菌数が介入前に比べて有意に減少し、歯周ポケット深さは改善する傾向を認めたが、統計学的に有意差はなかった。



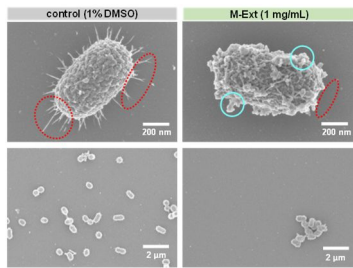


Fig. 4. 抹茶粗抽出物を添加後のPg菌体の変化

Pg菌体に、溶媒 (DMSO)のみ (左)、または抹茶粗抽出物 (右、100 mg/mL) を添加し 30 分後の菌体の形態や凝集性を FE-SEM により観察した。抹茶粗抽出物を添加すると、Pg菌体から放射状に伸びる線毛が失われ (赤)、OMVs のような粒子が観察された。また、菌体は凝集し、観察に使用したポリリジンコートされたガラス表面への付着性が著しく低下した。

(C) Pg 全細胞または OMVs を異なる濃度でマウスの尾静脈から静脈内注射し、注射後の異なる時点で安楽死させた。血液、脳、心臓、後肢、肝臓、肺、腎臓、脾臓、および膵臓中の Pg 細胞および OMV の量は、1 菌体または 1 つの OMVs あたりの 16S rRNA 遺伝子のコピー数の相関式に基づいて、リアルタイム PCR で推定した。48 時間後、OMVs を注射したすべてのマウスの脳で Pg 16S rRNA 遺伝子が検出されたが、他の臓器では検出されなかった。菌体を注射したマウスでは、脳およびそれ以外のすべての臓器においても検出されなかった。5.6×10<sup>11</sup> 個の OMVs を投与した場合、投与 48 時間後の脳で合計 4.1×10<sup>8</sup> 個の OMV が検出された (図 5)。Pg の菌体は血液脳関門を通過できないが、OMVs は血液脳関門を通過して、神経変性疾患を誘発する可能性が示唆された。

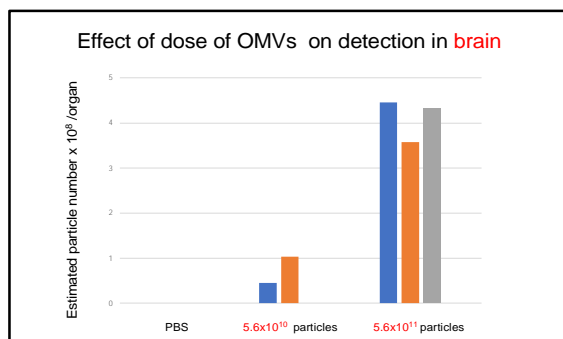


Fig. 5. マウス脳に含まれる Pg OMVs

PBS、少量の Pg OMVs (投与した総粒子数 5.6×10<sup>10</sup>)、大量の Pg OMVs (5.6×10<sup>11</sup>) をマウス尾静脈へ投与し、48 時間後の Pg OMVs の検出量を示す。各マウス数: N=3。

(D) 口腔・咽頭がん (N=10)、乳がん (N=7)、膵臓がん (N=10)、結腸がん (N=12)、歯周病を有する健常者 (非担がん患者) (N=11)、その他の臓器のがん (皮膚がん N=2、骨軟部肉腫 N=1)、の患者から採取した唾液中の細菌学的プロファイルを比較した。唾液中の Pg の総菌数や全細菌に対する Pg の占有比率について、患者のがんが発生し臓器別に調べてみると、乳がん患者で多い傾向が認められたが、統計学的な有意差はなかった。今後は、Pg の遺伝学的背景や病原性を含めた形質について調査する予定である。また、(A) で確立した免疫 FE-SEM 法を用いて、唾液中の Pg OMVs 検出が可能か、現在検討を継続している。

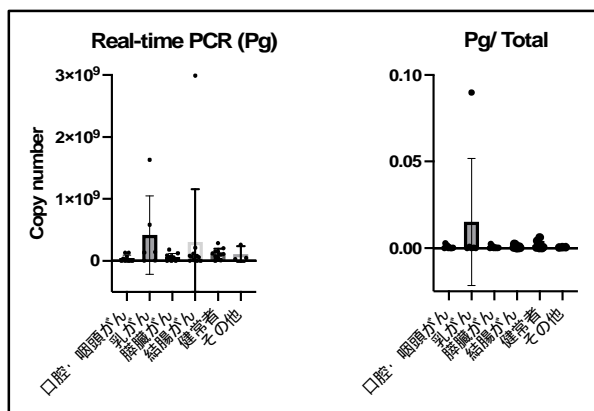


Fig. 6. 唾液中の Pg 菌数と Pg 占有比

異なる臓器のがん患者の唾液 2 mL 中の Pg 菌数 (左図)、総菌数に対する Pg の占有率 (右図) が示されている。口腔・咽頭がん (N=10)、乳がん (N=7)、膵臓がん (N=10)、結腸がん (N=12)、健常者 (歯周病を有する非担がん患者, N=11)、その他 (皮膚がん N=2、骨軟部肉腫 N=1)。

臨床研究登録 UMIN000047168

## 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 1件/うちオープンアクセス 6件）

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) 10.3390/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 Ryoma Nakao, Tsuyoshi Ikeda, Soichi Furukawa, Yasushi Morinaga	4. 巻 10
2. 論文標題 Curry leaf triggers cell death of <i>P. gingivalis</i> with membrane blebbing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 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 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 Yusuke Iwabuchi, Tomoyo Nakamura, Yasuka Kusumoto, Ryoma Nakao, Tsutomu Iwamoto, Osamu Shinozuka, Hidenobu Senpuku	4. 巻 9
2. 論文標題 Effects of pH on the properties of membrane vesicles including glucosyltransferase in <i>Streptococcus mutans</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 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 in press
2. 論文標題 Scanning Electron Microscopy of Escherichia coli 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 in press
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 Nakao Ryoma, Kobayashi Hirota, Iwabuchi Yusuke, Kawahara Kazuyoshi, Hirayama Satoru, Ramstedt Madeleine, Sasaki Yuki, Kataoka Michiyo, Akeda Yukihiro, Ohnishi Makoto	4. 巻 7
2. 論文標題 A highly immunogenic vaccine platform against encapsulated pathogens using chimeric probiotic Escherichia coli membrane vesicles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 npj Vaccines	6. 最初と最後の頁 153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41541-022-00572-z	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 Ryoma, Hirayama Satoru, Yamaguchi Takehiro, Senpuku Hidenobu, Hasegawa Hideki, Suzuki Tadaki, Akeda Yukihiro, Ohnishi Makoto	4. 巻 41
2. 論文標題 A bivalent outer membrane vesicle-based intranasal vaccine to prevent infection of periodontopathic bacteria	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 4369 ~ 4383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vaccine.2023.05.058	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 Kanno Mizuki, Shiota Takuya, Ueno So, Takahara Minato, Haneda Keisuke, Tahara Yuhei O., Shintani Masaki, Nakao Ryoma, Miyata Makoto, Kimbara Kazuhide, Futamata Hiroyuki, Tashiro Yosuke	4. 巻 14
2. 論文標題 Identification of genes involved in enhanced membrane vesicle formation in Pseudomonas aeruginosa biofilms: surface sensing facilitates vesiculation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1252155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2023.1252155	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 Aoki Sadao, Yahara Hiroko, Nakao Ryoma, Tsuzukibashi Osamu, Yahara Koji	4. 巻 6
2. 論文標題 Development of selective isolation media for detecting the genera Actinomyces and Schaalia from oral specimens containing indigenous bacteria	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Access Microbiology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/acmi.0.000768.v3	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 Nakao Ryoma, Takatsuka Ayami, Mandokoro Kengo, Narisawa Naoki, Ikeda Tsuyoshi, Takai Hideki, Ogata Yorimasa	4. 巻 in press
2. 論文標題 Multimodal inhibitory effect of matcha on <i>Porphyromonas gingivalis</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/spectrum.03426-23	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 Takahara Minato, Hirayama Satoru, Futamata Hiroyuki, Nakao Ryoma, Tashiro Yosuke	4. 巻 in press
2. 論文標題 Biofilm derived membrane vesicles exhibit potent immunomodulatory activity in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Microbiology and Immunology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1348-0421.13156	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 Abe Kimihiro, Toyofuku Masanori, Nomura Nobuhiko, Obana Nozomu	4. 巻 23
2. 論文標題 Autolysis mediated membrane vesicle formation in <i>Bacillus subtilis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 2632 ~ 2647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1462-2920.15502	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 Yasuda Marina, Yamamoto Tatsuya, Nagakubo Toshiki, Morinaga Kana, Obana Nozomu, Nomura Nobuhiko, Toyofuku Masanori	4. 巻 37
2. 論文標題 Phage Genes Induce Quorum Sensing Signal Release through Membrane Vesicle Formation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 n/a ~ n/a
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1264/jsme2.ME21067	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50件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 15件)

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 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性質とアジュバント活性の解析
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会 (招待講演)
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 腸内細菌由来メンブレンベシクルによる宿主免疫を介した宿主微生物叢制御
3. 学会等名 第34回微生物生態学会
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 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 <i>Clostridium perfringens</i> 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 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilm
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, Tsuyoshi Ikeda
2. 発表標題 Inhibitory activity of mahanimbine against <i>Porphyromonas gingivalis</i>
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25回 日本ワクチン学会
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 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

1. 発表者名 中尾龍馬、吉野七海、池田剛
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis への二重の阻害効果を示すフェンネル中の化合物X
3. 学会等名 第95回日本細菌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹井奎多、高原翠夏人、今泉昌慶、二又裕之、中尾龍馬、田代陽介
2. 発表標題 細菌が放出する膜小胞の免疫誘導とワクチンへの応用
3. 学会等名 大腸菌研究会
4. 発表年 2022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の医療応用に向けた取組み
3. 学会等名 第29回内毒素・LPS研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内山大樹、宮崎英隆、山口雄大、中尾龍馬
2. 発表標題 マウスにおけるPorphyromonas gingivalis 由来外膜小胞の血行動態について
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木本万結、小根山千歳、中尾龍馬、二又裕之、田代陽介
2. 発表標題 生物発光共鳴エネルギー移動を利用した生体内イメージング用細菌膜小胞の作製
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木本万結、小根山千歳、中尾龍馬、二又裕之、田代陽介
2. 発表標題 生体内微粒子モニタリングに向けた透過性の高い”光る”膜小胞の作製
3. 学会等名 日本微生物生態学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉野七海、池田剛、中尾龍馬
2. 発表標題 ポルフィロモナス・ジンジバリスに対するフェネルの二重阻害活性
3. 学会等名 第36回日本香辛料研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口雄大、寒川訓明、中尾龍馬、明田幸宏
2. 発表標題 BCG 由来細胞外小胞の新規結核ワクチンへの応用
3. 学会等名 第26回 日本ワクチン学会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 中尾龍馬、山口雄大、石原和幸、明田幸宏
2. 発表標題 歯周病ワクチンの研究:細菌由来外膜小胞による優れた粘膜免疫原性の活用
3. 学会等名 第26回 日本ワクチン学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中尾龍馬
2. 発表標題 鼻粘膜投与型の細菌由来膜小胞ワクチン
3. 学会等名 第57回 緑膿菌感染症研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中尾龍馬、岩淵佑介、川原一芳、明田幸宏、大西真
2. 発表標題 プロバイオティクス大腸菌キメラ由来メンブレンヴェシクルによる莢膜保有病原体に対するワクチン
3. 学会等名 第96回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山口雄大、寒川訓明、中尾龍馬、明田幸宏
2. 発表標題 ウシ型結核菌弱毒株BCG由来メンブレンヴェシクルを用いた新規結核ワクチン開発
3. 学会等名 第96回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木本万結、小根山千歳、中尾龍馬、二又裕之、田代陽介
2. 発表標題 生体内イメージングに向けた長波長発光膜小胞の作製
3. 学会等名 第96回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内山大樹、山口雄大、宮崎英隆、明田宏幸、中尾龍馬
2. 発表標題 Fate of Porphyromonas ginigivalis outer membrane vesicles intravesously administered to mice
3. 学会等名 第96回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryoma Nakao
2. 発表標題 Toward Membrane Vesicle Vaccine Development: Better Understanding of Physicochemical, Biological and Immunological Properties
3. 学会等名 Joint Seminar   Bacterial Membrane Vesicles   Biological Interpretation and Vaccine Application (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉野七海、小池麻里子、伊藤健吾、恩田浩之、池田剛、中尾龍馬
2. 発表標題 フェネルシード由来ベトロセリン酸による口腔環境改善の可能性
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中尾龍馬、安部公博、山口雄大、木村聡一郎、明田幸宏
2. 発表標題 プロバイオティクス大腸菌由来外膜小胞を使った肺炎球菌ワクチンの投与ルートの検討
3. 学会等名 第 53 回レンサ球菌研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中尾龍馬
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis (Pg) に対する増殖阻害と凝集を誘導する抹茶由来成分の探索
3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中尾龍馬
2. 発表標題 膜小胞ワクチン：歯周病や感染症の制御に向けた取組み
3. 学会等名 第33回日本口腔内科学会・第36回日本口腔診断学会・第43回日本歯科薬物療法学会・第32回日本口腔感染症学会 4学会合同学術大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryoma Nakao, Kimihiro Abe, Takehiro Yamaguchi, Soichiro Kimura, Yukihiro Akeda
2. 発表標題 Intranasal immunization with pneumococcal capsular polysaccharides-displayed outer membrane vesicles of probiotic Escherichia coli
3. 学会等名 2023 International Society for Vaccines (ISV) ANNUAL CONGRESS (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中尾龍馬
2. 発表標題 膜小胞ワクチン：歯周病や感染症の制御に向けた取組み
3. 学会等名 第106回日本細菌学会関東支部会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋葵、長田勝英、中村知世、西野智彦、小林宏尚、中尾龍馬
2. 発表標題 歯周病原細菌とその外膜小胞の構成・構造の解析
3. 学会等名 第96回日本生化学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中尾龍馬、池田剛、明田幸宏
2. 発表標題 Mahanibinellは歯周病原細菌の表面にクレーター状の穴を開ける
3. 学会等名 第96回日本生化学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹井奎多、今泉昌慶、二又裕之、中尾龍馬、田代陽介
2. 発表標題 大腸菌膜小胞のワクチン利用に向けた異種多糖抗原輸送効率の向上
3. 学会等名 日本膜学会 第45年会, 膜シンポジウム2023の合同大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木本万結、小根山千歳、二又裕之、中尾龍馬、田代陽介
2. 発表標題 生物発光共鳴エネルギー移動を用いた細菌膜小胞の生体内観察最適化
3. 学会等名 第36回日本微生物生態学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryoma Nakao
2. 発表標題 A Novel Vaccine Platform against Pneumococcal Infection Using Glycoengineered Membrane Vesicles of Probiotic Escherichia coli
3. 学会等名 The 4th Asian Pneumococcal Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryoma Nakao
2. 発表標題 Study in OMV Vaccines Against Periodontitis Using Mouse and Beagle Models
3. 学会等名 Invited seminar at Molecular Biology Department of Umea University (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Ryoma Nakao
2. 発表標題 Research in Bacterial Membrane Vesicles : Towards Understanding Immunological Function and Vaccine Application
3. 学会等名 MTC Infection and Immunity Seminar at Karolinska Institutet (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 中尾龍馬
2. 発表標題 細菌が創る膜小胞ワクチン：歯周病や感染症の制御に向けた取り組み
3. 学会等名 日本小動物歯科研究会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Nanami Yoshino, Tsuyoshi Ikeda, Ryoma 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 Ryoma Nakao, Satoru Hirayama, Iwabuchi Yusuke, Makoto Ohnishi
2. 発表標題 Probiotic Eshcherichia coli 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 (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 (歯科基礎医学会賞)
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryoma Nakao
2. 発表標題 Intranasal delivery of bacterial membrane vesicles carrying exogenous capsular polysaccharides: a proposed next-generation vaccine platform against a wide diversity of pathogens
3. 学会等名 第93回 日本生化学会 (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

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Hirayama S, Nakao R.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 10
3. 書名 Methods in Molecular Biology: Intranasal vaccine study using Porphyromonas gingivalis membrane vesicles: isolation method and application to a mouse model	

1. 著者名 Hirayama S, Nakao R.	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 10
3. 書名 Methods in Molecular Biology: Glycine Induction Method: Effective Production of Immunoactive Bacterial Membrane Vesicles with Low Endotoxin Content	

〔産業財産権〕

〔その他〕

EMBO Workshop on Bacterial Membrane Vesicles <a href="https://meetings.embo.org/event/20-membrane-vesicles">https://meetings.embo.org/event/20-membrane-vesicles</a> EMBO Workshop on MVs 2021 Poster <a href="https://meetings.embo.org/files/posters/20-membrane-vesicles.pdf">https://meetings.embo.org/files/posters/20-membrane-vesicles.pdf</a>
--

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	尾花 望  (Obana Nozomu)  (00722688)	筑波大学・医学医療系・助教    (12102)	
研究分担者	川崎 忠寛  (Kawasaki Tadahiro)  (10372533)	一般財団法人ファインセラミックスセンター・その他部局等・主任研究員   (83906)	
研究分担者	泉福 英信  (Senpuku Hidenobu)  (20250186)	日本大学・松戸歯学部・教授   (32665)	

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	平山 悟  (Hirayama Satoru)  (70778555)	新潟大学・医歯学系・助教    (13101)	
研究分担者	佐々木 祐生  (Sasaki Yuki)  (80808668)	一般財団法人ファインセラミックスセンター・その他部局等・研究員    (83906)	
研究分担者	上野 尚雄  (Ueno Takao)  (90450832)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医長    (82606)	

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	Karolinska Institutet	