

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09943

研究課題名(和文)細菌由来メンブレンヴェシクルの高感度検出法の開発と慢性炎症性血管疾患からの同定

研究課題名(英文) The development of high-sensitivity detection system of bacteria-derived membrane vesicle and detection of membrane vesicle in the chronic inflammatory vascular diseases

研究代表者

宮崎 英隆 (Miyazaki, Hidetaka)

愛知医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70420271

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：歯周病の主たる原細菌であるPorphyromonas gingivalis が放出する膜小胞(Membrane Vesicleメンブレン・ヴェシクル)(以下MV)が病原因子・免疫活性因子を内包していることに着目し、MVが生体へ与える影響の解明を目的として一連の研究を行った。その結果、膜小胞の特徴的な構造や細胞毒性、生体へ与える影響が明らかとなってきた。またMVを利用したワクチン開発に着手した。今後、口腔細菌の膜小胞の解析が歯周病のみならず全身疾患の原因や進行を考える上での重要な鍵となることが推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病の主たる原細菌であるPorphyromonas gingivalis (以下Pg)は、近年歯周病のみならず全身に生ずる様々な炎症性疾患の発症起点もしくは増悪因子となると考えられているが、その詳細は明らかになっていなかった。われわれは細菌が放出する膜小胞(メンブレン・ヴェシクル)が病原因子・免疫活性因子を内包していることに着目し、研究を行った。その結果、膜小胞の特徴的な構造や生体へ与える影響が明らかとなってきた。今後の膜小胞の解析が口腔細菌と全身疾患の関わりを考える上での重要な鍵となることが推測された。

研究成果の概要(英文)：We focused on the fact that membrane vesicles (MVs) released by Porphyromonas gingivalis, the main causative agent of periodontal disease, contain pathogenic and immunologically active factors, and performed a series of studies to elucidate the effects of MVs on the body. We performed a series of studies to elucidate the effects of MVs on living organisms. As a result, the characteristic structure of membrane vesicles, their cytotoxicity, and effects on living organisms have been clarified. We have also started development of a vaccine using MVs. It is speculated that the analysis of membrane vesicles of oral bacteria will become an important key to understand the cause and progression of not only periodontal disease but also systemic diseases.

研究分野：歯科・口腔外科

キーワード：歯周病 Porphyromonas gingivalis Pg メンブレンヴェシクル 細菌 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

歯周病は成人の約80%という高い罹患率を示し、歯牙喪失の最大の原因となっている。歯周病の本態は、歯周病原細菌により構成されるバイオフィルムにより惹起される慢性炎症とされているが、実はその発症機構の詳細は未だ不明である。歯周病の主たる原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (以下 Pg) は、近年歯周病のみならず全身に生ずる様々な炎症性疾患の発症起点もしくは増悪因子となると考えられている。また、Pg 感染が発がんリスクを上昇させることや、リウマチ性関節炎やアルツハイマー型認知症の密接な関連性も報告された。これらの全身疾患は言わば社会問題ともなっている。しかし、未だその詳細は明らかとなっていなかった。このような背景のもと様々な全身疾患の発症や増悪における Pg 感染との関わりとそのメカニズムを解明することは急務であった。

近年、Pg が菌体外に放出する微粒子である細菌由来膜小胞；メンブレンヴェシクル(以下 MV) が、その安定的なナノ粒子構造体に多種多彩な病原因子と免疫賦活因子を内包していることが明らかとなった。また Pg-MV は構造安定性が高く、MV に守られた病原因子や抗原は無傷のまま標的細胞へ到達する。さらに MV は細菌よりもさらに小さいナノ粒子であり、エンドサイトーシスにより迅速に細胞内に取り込まれ、血管内皮細胞間隙や血液脳関門も通過が可能と考えられている。以上より Pg-MV は生体内で細菌由来病原因子の運び屋として機能し、慢性の血管変性疾患などにおいて局所の微小炎症の誘発に重要な役割を果たす可能性が考えられた。

申請者は、歯周病のみならず糖尿病・リウマチ性関節炎・末梢動脈疾患・下腿の難治性潰瘍といった慢性炎症の成立における Pg の MV の深い関連性を想察した。

2. 研究の目的

これを検証すべく、本研究では以下の一連の研究計画を立てた。まず MV が口腔粘膜上皮や血管内皮を攻撃した時に生じる炎症・免疫応答を包括的に検討する。さらに高速原子間力顕微鏡を活用し、MV 添加による各種細胞の形態変化をリアルタイムでナノイメージングする。一方で、Pg に由来する MV の高感度検出法を確立し、生体内での Pg-OMV の生体内での遠隔臓器への移行・蓄積を血管外科のグループとの協力体制のもと、実験モデル動物や実際の歯周病患者、糖尿病患者、下腿の潰瘍の患者などから臨床検体(唾液・血液・切除組織など)を得て、臨床検体からの Pg の単離や MV の同定を行う。これによって全身疾患発症における口腔細菌の関与とそのメカニズムを解明することを目指した。

3. 研究の方法

われわれは、以下の様な研究計画を立案した。それぞれの詳細は成果の項目で併せて述べる。

MV の回収・MV を用いた細胞培養系実験

Pg-OMV の構造解析

Pg-OMV 高感度検出法の開発

実験動物を用いた Pg-OMV の生体内での遠隔臓器への移行・蓄積の検討

MV を活用した新たなワクチン開発

臨床検体からの MV の検出

4. 研究成果

Pg の MVs を含む培養上清や培養上清から単離した MVs を口腔扁平上皮細胞株 Ca9.22 のモノレイヤーに添加すると、細胞がラウンディングを引き起こし、プレート底面から脱離した。一方、Pg のジンジパイン変異株の培養上清や MVs を Ca9.22 細胞に添加しても、細胞のラウンディングと脱離は観察されなかった。MVs にはジンジパインが含まれていることが報告されている事からも、以上の結果から、MVs のジンジパインが細胞間接着分子を分解して、細胞のラウンディングと脱離を促すことが示唆された。また、Pg の MVs の構造を電子顕微鏡を用いて詳細に観察したところ、Pg の MVs は、大腸菌などの他の MVs と比べて、表面の粗さが大きいことが明らかとなった。さらに、もう一つの歯周病原細菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

(以下 Aa 菌) の MVs の分子プロファイリングを行ったところ、Aa の MVs には外膜タンパク OmpA が主要タンパクとして存在し、主たる病原因子であるロイコトキシン LtxA が含有されていたが、特に LtxA の MVs での発現量については、Aa の異なる株間において大きく異なることが明らかとなった。

異なる条件で産生される Pg-OMV を、高速 AFM、及び FE-SEM 等の高分解能顕微鏡を用いた形態構造解析、分子レベルでの組成解析に供試し、比較検討した。その結果、Pg-OMV の産生様式として、通常の生育過程で産生される様式と、ある種の化学物質などが Pg 菌体に作用して産生誘導される様式の 2 通りが存在することが明らかとなった。前者と後者の OMV の組成やその表面の物理化学的特性は異なっており、特に後者の OMV 産生は、Pg の生育に必須の栄養取得の阻害や、その主たる病原因子であるジンジパイン活性阻害の両方に関連することが明らかとなった。

OMV 高感度検出法の開発として、大腸菌の OMV 産生のライブイメージング技術へ応用が期待されるグラフェンサンドイッチ法に関する基盤的知見を得た。また、レンサ球菌や大腸菌の細菌膜小胞の産生メカニズムの一端を明らかにした。

Pg-OMV の生体内での遠隔臓器への移行・蓄積、その病態形成への関与を BALB/c、C57/BL6、腭上皮内腫瘍性病変発症、腭癌発症などの複数の系統のモデルマウスを用いて検討した。その結果、BALB/c 系マウスの尾静脈から OMV を投与した実験では、特定の臓器へ蓄積が認められた。現在その再現性の確認を行っている。腭癌発症の系についても 2024 年 3 月現在も実験進行中である。

MV を活用した新たなワクチン開発に着手した。遺伝毒性因子コリバクチン (CB) を欠損したプロバイオティクス大腸菌株の膜小胞の免疫学的特性を動物モデルで調べた。CB を欠損させると MV のアジュバント活性は向上した。また、同株を用いて、異種抗原を発現させたキメラ型膜小胞を作製し、皮下へ初回投与した後の、皮下または経鼻でのブースター効果を比較した。その結果、3 回の免疫スケジュールにおいて、2、3 回目も皮下投与を行なった場合と比べ、2、3 回目に経鼻ルートで接種すると、血中での IgG 産生量は同程度だが、血中と粘膜面での IgA 産生が強く誘導された。以上より、皮下と経鼻のルートを組み合わせることで、メンブレンヴェシクル・ワクチンの効果を向上できる可能性が示唆された。

慢性炎症性血管疾患に焦点をあて、その原因や増悪因子としての MV の関与の有無の解明を目指したが、臨床サンプル入手する段階にまでは至らなかった。

引き続き研究継続中の研究テーマがあるが、MV の構造解析、細胞障害性および免疫活性化に関する研究、ワクチン開発に関する研究においては有意義な成果が得られたものと考えられる。

【著書】(最新のものから記載)

1. Hirayama Satoru, Ryoma Nakao.

Bacterial Vaccines: Methods and Protocol. Glycine Induction Method – Effective Production of Immunoactive Bacterial Membrane Vesicles with Low Endotoxin Content –. Methods in Molecular Biology. 2414:207-226. 2022.

2. Hirayama Satoru, Ryoma Nakao.

Periodontal Pathogens: Methods and Protocol. Intranasal vaccine study using Porphyromonas gingivalis membrane vesicles: Isolation method and application to a mouse model. Methods in Molecular Biology 2210:157-166. 2021

【論文】(最新のものから記載)

1. Hidetaka Miyazaki, Yasuhiro Takahashi, Tessei Kuruma, Steffani Krista Someda, Hirohiko Kakizaki. Treatment strategies for orbital gas-producing necrotizing fasciitis secondary to odontogenic maxillary sinusitis: Technical notes. Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery 2024 ;125(3S):101544.

2. Hiroki Uchiyama, Toshifumi Kudo, Takehiro Yamaguchi, Nozomu Obana, Kenji Watanabe, Kimihiro Abe, Hidetaka Miyazaki, Masanori Toyofuku, Nobuhiko Nomura, Yukihiro Akeda, Ryoma Nakao.

- Mucosal adjuvanticity and mucosal booster effect of colibactin-depleted probiotic *Escherichia coli* membrane vesicles.
Human Vaccines & Immunotherapeutics. In press.
3. Mizuki Kanno, Takuya Shiota, So Ueno, Minato Takahara, Keisuke Haneda, Yuhei Tahara, Masaki Shintani, Ryoma Nakao, Makoto Miyata, Kazuhide Kimbara, Hiroyuki Futamata, Yosuke Tashiro. Identification of genes involved in enhanced membrane vesicle formation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: Surface sensing facilitates vesiculation. *Frontiers in Microbiology*. 14:1252155. 2023.
4. Ryoma Nakao, Hirota Kobayashi, Yusuke Iwabuchi, Kazuyoshi Kawahara, Satoru Hirayama, Madeleine Ramstedt, Yuki Sasaki, Michiyo Kataoka, Yukihiro Akeda, and Makoto Ohnishi. A highly immunogenic vaccine platform against encapsulated pathogens using chimeric probiotic *Escherichia coli* membrane vesicles. *npj Vaccines*. 7(1):153, 2022.
5. Nanami Yoshino, Tsuyoshi Ikeda Ryoma Nakao. Dual inhibitory activity of petroselinic acid enriched in fennel against *Porphyromonas gingivalis*. *Frontiers in Microbiology*. 13:816047. 2022.
6. Yuki Sasaki, Satoru Hirayama, Ryoma Nakao. Scanning Electron Microscopy of *Escherichia coli* Encapsulated in a Spacerized Graphene Sandwich. *Microscopy*. 71(3):175-180, 2022.
7. Yusuke Iwabuchi, Tomoyo Nakamura, Yasuka Kusumoto, Ryoma Nakao, Tsutomu Iwamoto, Osamu Shinozuka, Hidenobu Senpuku. Effects of pH on the properties of membrane vesicles including glucosyltransferase in *Streptococcus mutans*. *Microorganisms*. 9:2308. 2021.
8. Ryoma Nakao, Tsuyoshi Ikeda, Soichi Furukawa, Yasushi Morinaga. Curry leaf triggers cell death of *P. gingivalis* with membrane blebbing. *Pathogens*. 10(10):1286. 2021.
9. Ryoma Nakao, Takao Ueno. Effects of oral moisturizing gel containing propolis following head and neck radiotherapy: randomized controlled pilot trial. *BDJ Open*. 7:12. 2021.
10. Tomoyo Nakamura, Yusuke Iwabuchi, Satoru Hirayama, Naoki Narisawa, Fumio Takenaga, Ryoma Nakao, Hidenobu Senpuku. Roles of membrane vesicles from *Streptococcus mutans* for the induction of antibodies to glucosyltransferase in mucosal immunity. *Microbial Pathogenesis*. 149:104260. 2020.
11. Satoru Hirayama, Ryoma Nakao. Glycine significantly enhances bacterial membrane vesicle production: a powerful approach for isolation of LPS-reduced membrane vesicles of probiotic *Escherichia coli*. *Microbial Biotechnology*. 13(4):1162-1178. 2020.
12. Hara S, Shimizu K, Nariai T, Kishino M, Kudo T, Umemoto T, Inaji M, Maehara T. De Novo Renal Artery Stenosis Developed in Initially Normal Renal Arteries during the Long-Term Follow-Up of Patients with Moyamoya Disease. *Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases* 29: 104786. 2020

【学会発表・講演等】(最新のものから記載)

1. 内山大樹、山口雄大、宮崎英隆、明田宏幸、中尾龍馬
Fate of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles intravesously administered to mice.
第96回 日本細菌学会総会。姫路。2023.
2. 木本万結、小根山千歳、中尾龍馬、二又裕之、田代陽介

生体内イメージングに向けた長波長発光膜小胞の作製。

第96回 日本細菌学会総会。姫路。2023.

3. 中尾龍馬

鼻粘膜投与型の細菌由来膜小胞ワクチン。

第57回 緑膿菌感染症研究会。つくば。2023.

4. 中尾龍馬、山口雄大、石原和幸、明田幸宏

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。

第26回 日本ワクチン学会。高松市。2022.

5. 内山大樹、宮崎英隆、山口雄大、中尾龍馬

マウスにおけるPorphyromonas gingivalis 由来外膜小胞の血行動態について。

第64回歯科基礎医学会。徳島市。2022.

6.中尾龍馬

細菌由来メンブレンヴェシクルの医療応用に向けた取り組み。

第29回内毒素・LPS研究会。東京。2022

7. Hirayama S, Nakao R.

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。

第63回歯科基礎医学会。Online. 2021.

8. 中尾龍馬

細菌由来メンブレンベシクル:その優れた特性を活用したワクチン開発。

研究紹介。部内セミナー。東京。2021

9. 中尾龍馬

細菌由来メンブレンベシクル:その優れた特性を活用したワクチン開発。

第94回日本細菌学会。Online. 2021

10. 吉野七海、池田剛、中尾龍馬

P. gingivalis の膜小胞産生誘導及び迅速な殺菌効果を示すフェネル抽出物。

第94回日本細菌学会。Online. 2021.

11. 中尾龍馬

抹茶洗口の歯周組織への影響。

抹茶と健康研究会 成果発表会。Online. 2021

12. 中尾龍馬

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。

NIID/futureセミナー「ワクチン開発研究の現状と展望」。

Webinar. 内部発表。2020

13. 中尾龍馬

Intranasal delivery of bacterial membrane vesicles carrying exogenous capsular polysaccharides: a proposed next-generation vaccine platform against a wide diversity of pathogens.

第93回日本生化学会。横浜。2020.

14. 平山悟、中尾龍馬

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—。

第62回歯科基礎医学会。鹿児島。2020

15. Ryoma Nakao, Satoru Hirayama, Iwabuchi Yusuke, Makoto Ohnishi

Probiotic *Escherichia coli* membraned vesicles carrying pneumococcal capsular polysaccharides: An in vivo study of intranasal vaccines using safe and immunogenic nanoparticles.

12th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases. Online. 2020

16. Ryoma Nakao, Satoru Hirayama

Glycine significantly enhances bacterial membrane vesicle production – powerful approach for isolation of LPS-reduced membrane vesicles of probiotic *Escherichia coli*.

11th Annual Symposium of the Umeå Centre for Microbial Research. Umeå, Sweden. 2020

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11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 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 Porphyromonas gingivalis	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 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 13
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 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 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 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 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 <i>Escherichia coli</i>	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) 10.1111/1751-7915.13572	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 Tomoyo Nakamura, Yusuke Iwabuchi, Satoru Hirayama, Naoki Narisawa, Fumio Takenaga, Ryoma Nakao, Hidenobu Senpuk	4. 巻 149
2. 論文標題 Roles of membrane vesicles from <i>Streptococcus mutans</i> 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	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 Hara S, Shimizu K, Nariai T, Kishino M, Kudo T, Umemoto T, Inaji M, Maehara T.	4. 巻 29
2. 論文標題 De Novo Renal Artery Stenosis Developed in Initially Normal Renal Arteries during the Long-Term Follow-Up of Patients with Moyamoya Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 104786
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104786	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 Hiroyuki Uchiyama, Toshifumi Kudo, Takehiro Yamaguchi, Nozomu Obana, Kenji Watanabe, Kimihiro Abe, Hidetaka Miyazaki, Masanori Toyofuku, Nobuhiko Nomura, Yukihiro Akeda, Ryoma Nakao.	4. 巻 20
2. 論文標題 Mucosal adjuvanticity and mucosal booster effect of colibactin-depleted probiotic Escherichia coli membrane vesicles	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Human Vaccines & Immunotherapeutics	6. 最初と最後の頁 2337987
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/21645515.2024.2337987	査読の有無 無
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 Hidetaka Miyazaki, Yasuhiro Takahashi, Tessei Kuruma, Steffani Krista Someda, Hirohiko Kakizaki.	4. 巻 125
2. 論文標題 Treatment strategies for orbital gas-producing necrotizing fasciitis secondary to odontogenic maxillary sinusitis: Technical notes.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 101544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jormas.2023.101544.	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 Mizuki Kanno, Takuya Shiota, So Ueno, Minato Takahara, Keisuke Haneda, Yuhei Tahara, Masaki Shintani, Ryoma Nakao, Makoto Miyata, Kazuhide Kimbara, Hiroyuki Futamata, Yosuke Tashiro	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 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件）

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 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、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 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 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 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、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 吉野七海、池田剛、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 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
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hirayama S, Nakao R.
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
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 (招待講演) (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 <i>Eshcherichia 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 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
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 工藤敏文
2. 発表標題 Strategy for Pararenal Abdominal Aortic Aneurysm -EVAR vs. Open-
3. 学会等名 第48回日本血管外科学会総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ボルフィロモナス・ジンジパリス用殺菌剤、及びボルフィロモナス・ジンジパリスに対する抗菌作用を有する成分を製造する方法	発明者 吉野七海、池田剛、 中尾龍馬	権利者 エスビー食品
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-057781 公開2022-154653	出願年 2021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	中尾 龍馬 (Ryoma Nakao) (10370959)	国立感染症研究所・細菌第一部・主任研究官 (82603)	
研究分担者	工藤 敏文 (Toshifumi Kudo) (50431911)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授 (12602)	
研究分担者	平山 悟 (Satoru Hirayama) (70778555)	新潟大学・医歯学系・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