

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

	部・講師	予防/治療法の開発	収集、阻害剤の臨床効果の検討、臨床応用
河野 緑	臨床検査医学講座・講師	バイオフィルム感染症に対する予防/治療法の開発	バイオフィルム内の細菌の検出法の開発
橋本 和弘	心臓外科学講座・教授	バイオフィルム感染症の臨床研究	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用
丸毛 啓史	整形外科学講座・教授	バイオフィルム感染症の臨床研究	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用
矢永 勝彦	外科学講座・教授	バイオフィルム感染症の臨床研究	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用
上園 晶一	麻酔科学講座・教授	バイオフィルム感染症の臨床研究	バイオフィルム感染症の臨床研究
海渡 建	中央検査部・診療部長	バイオフィルム感染症に対する予防/治療法の開発	バイオフィルムの細菌学的解析
穎川 晋	泌尿器科学講座・教授	バイオフィルム感染症の臨床研究	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用
(共同研究機関等)			
園元 謙二	九州大学大学院 農学研究院・教授	バクテリオシンの利用によるバイオフィルム制御研究	バクテリオシン生産菌および精製バクテリオシンの提供、スクリーニング支援
中山 二郎	九州大学大学院 農学研究院・准教授	バクテリオシンの利用によるバイオフィルム制御研究	バクテリオシン生産菌および精製バクテリオシンの提供、スクリーニング支援
佐藤 主税	産業技術総合研究所・研究グループ長	大気圧走査電子顕微鏡を利用したバイオフィルム解析法の開発	解析法の共同開発、技術支援
吉川 衛	東邦大学・耳鼻咽喉科・教授	バイオフィルム感染症の臨床研究	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用

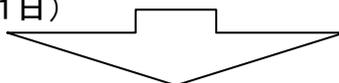
<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

【変更】

旧

プロジェクト外での研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
バイオフィルム感染症の臨床研究	耳鼻咽喉科学講座・講師	吉川 衛	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用

(変更の時期:平成 26年 4月 1日)



法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
耳鼻咽喉科学講座・講師	東邦大学・耳鼻咽喉科・教授	吉川 衛	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用

【新規参加】

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
バイオフィルム感染症の病理学的研究	内科学講座 呼吸器内科・准教授	荒屋 潤	バイオフィルム感染症の内科学的診断

(変更の時期:平成 27年 4月 1日)

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
千葉 明生	細菌学講座・助教	バイオフィルム感染症制御法の開発	バイオフィルム形成の分子メカニズムの解明

(変更の時期:平成 28年 4月 1日)

【退職】

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
バイオフィルム感染症の臨床研究	耳鼻咽喉科学講座・教授	森山 寛	バイオフィルムサンプルの提供、細菌叢情報と臨床所見の照合、臨床応用

(変更の時期:平成 25年 4月 1日)

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
バイオフィルム感染症の病理学的研究	病理学講座・教授	羽野 寛	バイオフィルム感染症の病理学的診断

(変更の時期:平成 25年 4月 1日)

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

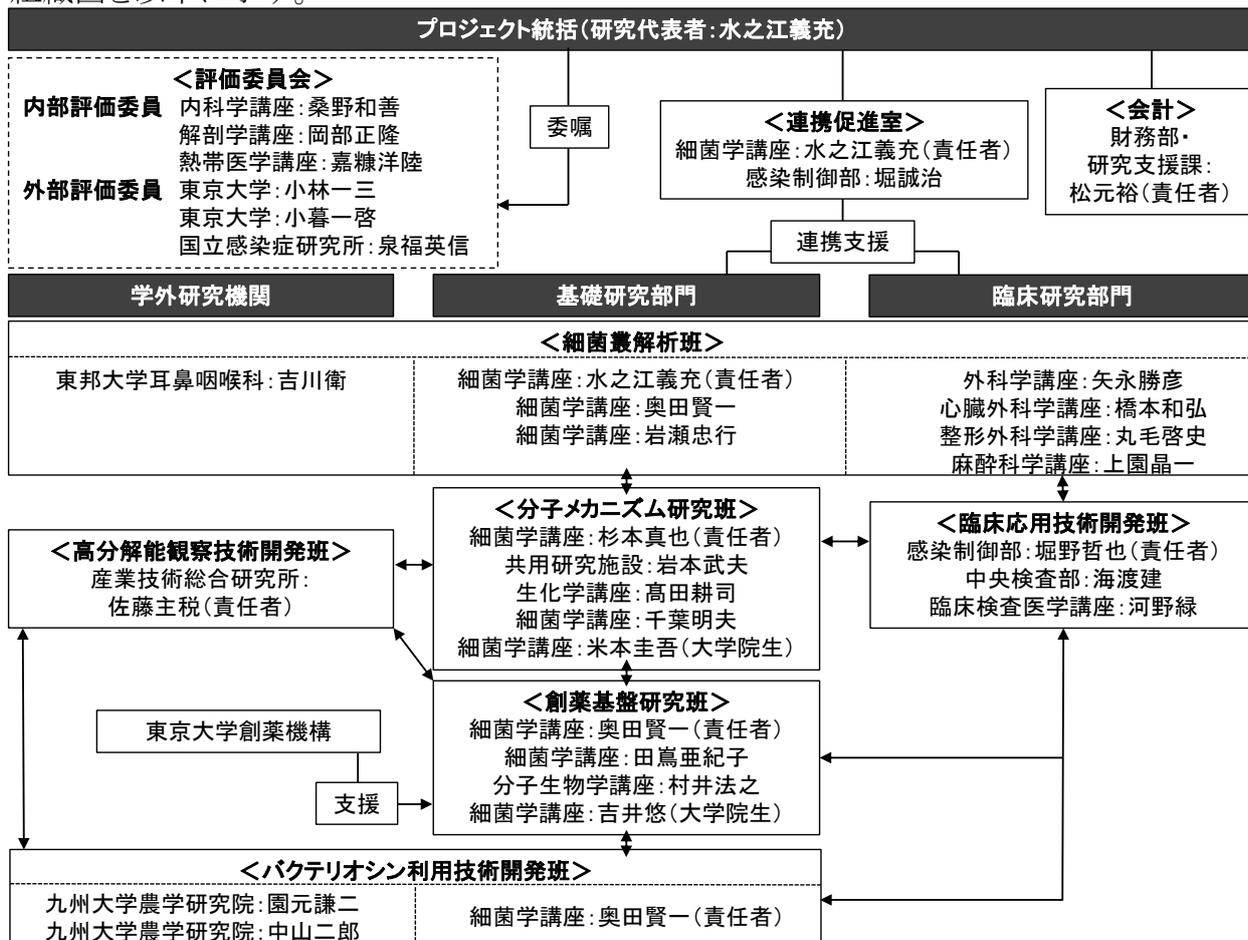
11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

細菌は核酸・多糖・タンパク質などから構成される細胞外マトリクス(ECM, extracellular matrix)を細胞外に産生することで、細胞の集合体—バイオフィルムを形成する。臨床において、バイオフィルムは難治性の感染症であるバイオフィルム感染症の原因として問題視されている。バイオフィルムを形成した細菌は薬剤に抵抗性を示し、また生体の防御機構からも逃れやすくなるため治療が困難であり、感染源であるデバイス除去するほかに有効な治療法が存在しない。米国 NIH によると感染症の 80% にバイオフィルム形成が関与すると推定されており(Research on microbial biofilms (PA-03-047))、効果的な予防・治療法の開発が急務である。本プロジェクトでは①バイオフィルム形成における分子メカニズムの解析、②バイオフィルムの新規観察技術の開発、③バイオフィルム阻害薬の開発に向けた創薬基盤研究、④新規バイオフィルム殺菌技術の開発を行うことで、バイオフィルム感染症制圧に向けた研究を推進する。また、⑤臨床から分離したバイオフィルムを構成する細菌種を解析することでバイオフィルム形成における各細菌の役割と疾患との関連性を解明し、バイオフィルム感染症に対する治療法・予防法の考案を行う。

(2) 研究組織

研究チーム間の連携体制、各研究者の役割分担・責任体制および研究者の人数を記載した組織図を以下に示す。



研究代表者はプロジェクト全体の統括を担うとともに連携促進室を設置し、基礎研究部門と臨床研究部門における連携を円滑に進める。創薬基盤研究班は、国内最大規模の化合物ライブラリーを保有する東京大学創薬機構から化合物の提供とスクリーニング技術に関する支援を受けている。産業技術総合研究所、九州大学農学研究院とは緊密な共同研究体制が構築されており、成果の一部はすでに論文発表した。将来的な研究基盤の発展と臨床部門での新

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

たなバイオフィルム研究の萌芽を意識して、ポスドク・大学院生をはじめとする若手研究者の育成に注力する。

(3) 研究施設・設備等

○研究装置

・バイオフィルム形成阻害試験自動化システム (TECAN: Freedom EVO150)

平成 24 年 8 月に大学一号館細菌学講座に設置された。バイオフィルム形成阻害活性を示す化合物のハイスループットスクリーニングに使用されている (利用時間数: 250 時間/月)

・大気圧走査電子顕微鏡 (JEOL: JASM-6200 Clair Scope)

平成 25 年 10 月に大学一号館総合医科学研究センターに設置された。主としてバイオフィルムの超高分解能観察と免疫電子顕微鏡法による ECM 分子の局在性解析に使用されている (利用時間数: 20 時間/月)。

・表面プラズモン共鳴装置 (GE Healthcare: Biacore T200)

平成 26 年 7 月に大学一号館細菌学講座に設置された。バイオフィルム形成阻害活性を示す化合物とターゲットタンパク質の相互作用解析に使用されている (利用時間数: 40 時間/月)。

○研究設備

・タンパク質精製システム (GE Healthcare: AKTA Purifier 10 PLUS)

平成 24 年 8 月に大学一号館細菌学講座に設置された。タンパク質の大量精製に使用されている (利用時間数: 50 時間/月)。

・卓上型超遠心機 (Beckman Coulter: Optima MAX-XP)

平成 26 年 7 月に大学一号館細菌学講座に設置された。バイオフィルム成分の分画に使用されている (利用時間数: 10 時間/月)。

(4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び*を付すこと。

【①バイオフィルム形成における分子メカニズムの解析】(主担: 分子メカニズム研究班)

<現在までの進捗状況及び達成度>

(A) ブドウ球菌のバイオフィルム形成メカニズム

バイオフィルムは菌種のみならず菌株レベルで性質が異なり、個々のバイオフィルムの細胞外マトリクス (ECM, extracellular matrix) を構成する成分を正確に評価することは、バイオフィルム形成の分子メカニズムの理解とそれぞれの性質に合わせた柔軟なバイオフィルム感染症対策の立案に重要であると考えられる。本研究では、バイオフィルム感染症の主要な起炎菌である黄色ブドウ球菌のバイオフィルムをモデルとして、最適な ECM の抽出条件を検討した。その結果、高濃度の塩化ナトリウム溶液 (1~1.5 M) を用いた数分間の処理により、ECM 中のタンパク質、多糖、核酸を溶菌を伴わずに効率的に抽出することができ、黄色ブドウ球菌以外の細菌 (表皮ブドウ球菌、緑膿菌、大腸菌) にも適用できることを明らかにした (論文*74、142、学会*55、57、67、71、74)。また、本手法を様々なブドウ球菌臨床分離株に応用することで、それらのバイオフィルム形成における分子基盤の一端が明らかとなった (学会*25、33)。さらに、回収した ECM の中には細胞外での機能が不明であったタンパク質 (細胞外分子シャペロン) や DNA 以外の核酸分子 (細胞外 RNA) が含まれており、それらが相補的あるいは協調的に機能することで、頑強なバイオフィルムが作られることを明らかにした (学会*19、29、39、42、54、58、59、60、66、73、81、82、受賞*5)。

(B) 大腸菌のバイオフィルム形成メカニズムの解明とその制御技術の開発

大腸菌をモデルとした研究 (熊本大学発生医学研究所・分子細胞制御分野・小椋 光教授の研究室との共同研究) では、分子シャペロン DnaK が curli と呼ばれる菌体外アミロイド線維の形成に必須であることを見出した (論文*76、学会発表*47、56、64、69、受賞*6)。詳細な機能解析の結果、①DnaKが定常期特異的なシグマ因子 RpoS/ σ^S や curli 生合成のマスタ

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

レギュレーターである CsgD の正しい立体構造形成に重要であること、②DnaK が curli を構成するサブユニット CsgA および CsgB の細胞質での品質管理を担っていること、③DnaK がそれらの菌体外への輸送にも関わっていることを明らかにした(学会発表*7、31、38、46、53、63、65、68、受賞*1)。また、DnaK の機能を阻害する低分子化合物ミリセチン(植物由来フラボノール)が大腸菌の増殖を阻害せず、濃度依存的にバイオフィーム形成を抑制することを明らかにした(論文*76、学会発表*47、56、64、69、受賞*6)。さらに Myricetin は、メチシリン耐性株を含む黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成も抑制した。このような食品に含まれる機能性成分の潜在的能力の開拓は食品の付加価値を高めるとともに、食による疾病予防への応用展開が期待できる。現在、Myricetin 類縁体の中で約 10 倍活性の高い化合物を見出しており、その作用機序の解明を進めている。

<特に優れた研究成果>

(A)ブドウ球菌のバイオフィーム形成メカニズム

本研究で考案した ECM の回収法は、簡便、非侵襲的かつ応用範囲が広いと、様々な菌種を対象とした幅広い研究に応用されることが期待される。また、本手法の開発により、細胞外での分子シャペロンや RNA の新しい機能を発見することができた。これらは、従来の教科書的な記述を修正するものであり、その波及効果はバイオフィーム研究にとどまらず、生物学全体に及ぶものである。また、本研究で考案した ECM の回収法は、下記に示すバイオフィーム阻害剤の作用機序の解明にもつながった。

(B)大腸菌のバイオフィーム形成メカニズムの解明とその制御技術の開発

大腸菌のバイオフィーム形成の分子メカニズムを解明することによって、分子シャペロンを標的とした新たなバイオフィーム阻害法を提案することができた。分子メカニズムに基づいたバイオフィーム阻害法の開発は、多数の化合物ライブラリーの中から阻害剤候補を探索し、それらの作用機序に迫っていく研究とは真逆のアプローチではあるが、本プロジェクト全体に厚みを与え、それぞれの研究班が有機的に結び付くことで得られた成果の好例であると思われる。

<課題となった点>

(A)ブドウ球菌のバイオフィーム形成メカニズム

一部の菌株については、バイオフィームマトリクス成分の量とバイオフィーム形成量の間に相関性が見られなかった。マトリクス成分の産生されるタイミングや局在・菌自身が産生する代謝物・pH など外的環境の要因などを含め、さらなる包括的な検討が必要である。

(B)大腸菌のバイオフィーム形成メカニズムの解明とその制御技術の開発

大腸菌のバイオフィーム形成において、主に DnaK が curli の産生を制御することがわかったが、菌体外でアミロイド線維を形成するタンパク質が、内膜と外膜に挟まれたペリプラズムでどのように品質管理を受けるのかは、まだわからない。少なくともペリプラズムに局在する複数の分子シャペロンやプロテアーゼが関わっているらしいが、それらの特定には至っていない。

【②バイオフィームの新規観察技術の開発】(主担:高分解能観察技術開発班)

<現在までの進捗状況及び達成度>

(A)大気圧走査電子顕微鏡を用いたバイオフィームの高分解能観察

産業技術総合研究所と連携し、新たに開発された大気圧走査電子顕微鏡(ASEM)(論文*103、104、105、167)を用いて種々の細菌の形態・バイオフィーム内部の微細構造(分泌小胞や線維構造など)・ECM 成分の時空間的動態を観察した(論文*33、学会発表*1、5、11、16、19、43、50、72)。重金属染色、正・負荷電ナノゴールドラベル、抗体ラベルなどにより、ブドウ球菌や大腸菌が固体表面に形成したバイオフィームと細胞外マトリクス(curli 線毛、鞭毛、DNA、分泌小胞)を可視化することができた。今後、バイオフィームの形成メカニズムの理解が

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

さらに深まり、新しい感染症治療薬の開発にも繋がると期待される。

(B)チオフラビンTを用いた細菌内RNAの量的変動の可視化

熊本大学との共同研究により、アミロイド線維の検出試薬として汎用されているチオフラビン T (ThT)が RNA にも強く結合することを発見した(論文*1、37、73、学会*6、34、62、受賞*3)。特に、プリン塩基(アデニンとグアニン)を多く含む RNA に結合した。また、生きた大腸菌の細胞内 RNA の量的変動を ThT で可視化することができた。特に、休眠状態にあって RNA 合成が低下している“persister”と呼ばれるごく少数の菌を識別するのに有効であった。さらに、本手法は、大腸菌のみならず、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、バチルス属細菌、コレラ菌、緑膿菌など様々な細菌にも適用可能であった。

<優れた成果が上がった点>

(A)大気圧走査電子顕微鏡を用いたバイオフィルムの高分解能観察

ASEM を導入し、生体環境に近い状態でバイオフィルムを観察することで、これまでの知見を覆す新しい構造情報が得られたことは特筆に値する。例えば、従来法では湾曲した線維構造として観察されていた curli が、ASEM では菌体から放射状に伸びた線維構造として観察された。あるいは、従来法で見られていたバイオフィルムの凝集が実は乾燥によるアーティファクトである可能性が高いことを指摘した。また、ASEM によるバイオフィルムの観察で培ったノウハウは、バイオフィルムの研究だけにとどまらず、幅広い分野への活用が期待される。実際に、生体組織切片を ASEM dish 上に載せて観察する手法や、動物の消化管に存在する細菌を生体に近い状態で高分解能観察できるようになった。

(B)チオフラビンTを用いた細菌内RNAの量的変動の可視化

ThT を用いることで、遺伝子発現の揺らぎを 1 細胞レベルで観察でき、リアルタイムイメージングへ応用できる可能性を示した。また、バイオフィルムにおける RNA 代謝の時空間的変動の可視化にもチオフラビン T を応用できることを見出している。

<課題となった点>

(A)大気圧走査電子顕微鏡を用いたバイオフィルムの高分解能観察

ASEM を用いた抗体染色において、抗体がバイオフィルム内部まで浸透し難く、成熟した分厚いバイオフィルムの観察の障壁となっている。この問題点を克服するためには、従来の抗体染色法に変わる斬新な手法の考案が重要である。現在、観察したいタンパク質(あるいはペプチド)に特異的に結合する低分子化合物とナノゴールド粒子を組合わせたプローブが考案されており、その有効性を検証する準備を進めている。また、ASEM ではバイオフィルムの底面の構造情報を得ることが可能であるが、電子線の浸透深度が $\sim 3 \mu\text{m}$ であるため、分厚いバイオフィルム($\sim 50 \mu\text{m}$)の全体構造やバイオフィルムの上部の構造を観察することは難しい。これらの課題を克服しつつ、液中でのバイオフィルムの高分解能観察を実現するために、小さな基板上に形成させたバイオフィルムを上下反転させて ASEM dish にのせて液中で観察する手法を開発している。さらに今後、超解像蛍光顕微鏡や原子間力顕微鏡などを組み合わせた手法の開発が必要である。

(B)チオフラビンTを用いた細菌内RNAの量的変動の可視化

真核細胞における RNA の量の時間・空間的変動の可視化においてチオフラビン T が有効なのか、どのような分子機構でチオフラビン T が RNA に結合するのかはまだわからない。

③バイオフィルム阻害薬の開発に向けた創薬基盤研究 (主担:創薬基盤研究班)

黄色ブドウ球菌は血管カテーテルなどの医療用デバイスにバイオフィルムを形成することで体内に侵入し、菌血症などの重篤な感染症を引き起こす病原菌である。世界的な問題となっているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) によるバイオフィルム感染症に対しては、抗菌薬

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

単独での治療が難しく、デバイスの物理的な除去以外に有効な治療法は存在しない。バイオフィーム感染症に有効な治療薬・予防薬の開発が急務であるが、タンパク質、多糖、核酸など分子が複雑に関与するバイオフィーム形成の分子メカニズムについては、未だ多くの部分が解明されておらず、治療薬・予防薬開発の障壁となっている。本研究では、バイオフィーム形成を選択的に阻害する低分子化合物を探索し、耐性を誘導することなくバイオフィーム感染症を制御することを目的に研究を行った。バイオフィーム感染症の原因菌として臨床で特に問題となっている黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成を阻害する化合物を探索した。まず、96 ウェルアッセイプレートへの分注操作、培養操作、阻害活性評価を自動で行うロボットシステムを構築することで、多くの化合物から迅速かつ高精度にスクリーニングを行う体制を整備した(学会*4、26、30、国内シンポジウム・ワークショップ*2)。公的機関としては国内最大規模の化合物ライブラリーを保有する東京大学創薬機構と連携し、信頼度の高いスクリーニング系を構築した。研究期間内に、バイオフィームの性質の異なる黄色ブドウ球菌 2 菌株をターゲットとして 59,600 化合物(119,200 アッセイ)のスクリーニングを行い、黄色ブドウ球菌の増殖には影響を与えず、バイオフィーム形成を選択的に阻害する 21 のヒット化合物を取得した。ヒット化合物のなかでも、特に活性が高く、複数の臨床分離株に対して幅広い活性スペクトルを示す 2 つの化合物 ABC-JK1 と ABC-JK2 の 2 つについて作用機序研究を進めた。

分子メカニズム研究班と連携し、ABC-JK1 存在下・非存在下で ECM 成分のプロファイルを解析した結果、ABC-JK1 存在下では黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成に重要な細胞外多糖の合成が抑制されることが明らかになった(学会*4、国内シンポジウム・ワークショップ*2)。また、ABC-JK1 の存在下では細胞壁の肥厚化が誘導されることが明らかとなった。UDP-GlcNAc は細胞外多糖と細胞壁の共通の基質であり、細胞壁合成の亢進が基質の不足による細胞外多糖の産生抑制に繋がったものと考えられた。また、ABC-JK1 は酸素呼吸を担う *gox* 遺伝子群の発現を上昇させ、結果的にプロトン駆動力依存的に作用するアミノグリコシド系抗菌薬に対する黄色ブドウ球菌の感受性を向上させることを明らかにした(国内シンポジウム・ワークショップ*2)。

特筆すべきことに、ABC-JK2 はすでに臨床で使用されている既存薬であった。本研究は既存薬にバイオフィーム形成阻害という新たな活性が見出された点においても意義が大きい。ABC-JK2 についても作用機序解析を行った結果、ABC-JK1 と同様に細胞外多糖の形成を抑制することが明らかになった(学会*40、41、44、48、49)。さらに、ABC-JK1 が効果を示さなかったタンパク質を主成分とするバイオフィームに対しても、ABC-JK2 は高い阻害効果を示し、両者の作用機序が異なることが示唆された。プロテオーム解析の結果、ABC-JK2 はマトリクスに含まれるタンパク質のなかでも特にバイオフィーム形成への関与が報告されている *enolase* と *SasG* の発現を抑制することが明らかになった。さらに驚くべきことに、ABC-JK2 は細胞壁の恒常性の破綻を引き起こし、βラクタム系抗菌薬に対する黄色ブドウ球菌の感受性を向上させる効果を持ち合わせていた(学会*27、36、受賞*4)。

<特に優れた研究成果>

新規バイオフィーム形成阻害剤を取得するため、東京大学創薬機構と連携して大規模なスクリーニングを行い、高活性かつ広いスペクトルを有する 2 つの化合物を取得できたことは大きな成果であった。作用機序解析の結果から、両化合物の作用機序は異なることが示唆されており、菌株によって性質の異なる様々なブドウ球菌バイオフィームを制御する上でともに有用であると考えられる。バイオフィーム形成阻害剤に関してはいくつかの報告例があるが、阻害の分子メカニズムに関しては未だ大部分が不明である。本研究では、2 つの化合物の作用機序解析を通して、細胞外多糖の産生抑制や細胞壁の恒常性破綻など、分子メカニズムの一端を明らかにすることができた。また、バイオフィーム形成阻害活性と抗菌薬に対する感受性向上という効果を持ち合わせた化合物の報告例はなく、本研究が与えるインパクトは大きい。

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

ABC-JK1とABC-JK2に関して、新たなバイオフィーム形成阻害剤として特許申請を準備中である。

<課題となった点>

バイオフィーム形成にはタンパク質、核酸、多糖、脂質といった様々な分子が複合的に関与しているため、ABC-JK1の作用機序を明らかにすることは困難であったが、分子メカニズム研究班によって開発されたECMの回収・分析法(論文*74、142、学会*55、57、67、71、74)を応用することで、ABC-JK1が細胞外多糖の合成を抑制することが明らかとなった。ABC-JK1の安全性評価は今後検討する必要があるが、ABC-JK2は既存薬であり人体への安全性がすでに確認されている。また、動物感染モデルを用いた評価を期間内に終えることができなかったが、ラットのバイオフィーム感染モデルに関して実績のあるパスツール研究所のGhigo博士の研究室を訪問し、ディスカッションを行った。現在、共同研究に向けた協議を行っている。

④新規バイオフィーム殺菌技術の開発 (主担:バクテリオシン利用技術開発班)

バイオフィームを形成した細菌は多くの抗菌薬に対して耐性を示すため、バイオフィーム感染症は難治性である。そのため、効果的なバイオフィーム殺菌技術の開発が強く求められている。本研究班は、細菌の産生する抗菌ペプチドであるバクテリオシンを使用したバイオフィーム殺菌技術の開発を行った。グラム陽性細菌の産生するバクテリオシンは数十アミノ酸残基からなる耐熱性のペプチドであり、標的となる細菌の細胞膜に孔を形成することで抗菌作用を発揮する。本研究班の園元は構造・活性スペクトルの異なる多種多様なバクテリオシンを分離同定しており(論文*2、40、41、43、44、144、146、148)、黄色ブドウ球菌のバイオフィームを効率的に殺菌可能なバクテリオシンを探索した。構造と作用機序が異なる3種のバクテリオシン(ナイシン A、ラクティシン Q、ヌカシン ISK-1)のバイオフィームに対する殺菌効果を比較したところ、ナイシン Aがバイオフィームに対して特に高い殺菌活性を示すことが明らかとなった(論文*79、106、学会*12、70、75、80)。ナイシン Aは実験条件下において極めて短時間(5~30分)で約30 μm厚のバイオフィームを深部まで殺菌したことから、バイオフィーム内部に速やかに浸透して孔形成を行うものと考えられた。また、ナイシン Aはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)や表皮ブドウ球菌のバイオフィームに対しても高い殺菌活性を示した。一方、対照として使用したバンコマイシンは同一条件下において効果を示さなかった。蛍光標識バンコマイシンを用いた実験により、バンコマイシンはバイオフィームに浸透して細胞膜に到達可能であることが示され、バイオフィームを殺菌する上で有効な作用機序は、バンコマイシンのような細胞壁合成阻害ではなく細胞膜への孔形成であることが示唆された(論文*79、106、学会*12、70、75、80)。ナイシン Aとラクティシン QはともにATPの漏出を伴う孔形成を行うが、ラクティシン Qの効果はナイシンに比べて著しく低いものであった。その原因として、両者の作用機序の違いが影響しているものと考えられた。ナイシンは細胞膜上に存在する細胞壁前駆体であるリポド IIを標的として結合するが、ラクティシン Qは細胞膜に直接結合する(論文*108)。バイオフィームを形成した細菌に対しては、作用機序としてリポド II結合能を有するバクテリオシンがより有効であることが示唆された。

さらに、オゾン水を用いたバイオフィーム殺菌技術についても開発を行った。オゾン水は、細菌に対して強力な抗菌力を有し、生体には無害とされている。オゾン水で処理することで黄色ブドウ球菌バイオフィームの生菌数は有意に減少した。また、ECMにタンパク質を多く含むバイオフィームに対しては、プロテアーゼとオゾン水を併用することでより効果的に殺菌ができることを見出した(論文*72、学会*76)。

<特に優れた研究成果>

バクテリオシンの作用機序に関してはこれまで多くの研究がなされてきたが、バイオフィームを

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

形成した細菌に対する殺菌メカニズムの詳細な解析や、既存の抗菌薬と有効性の比較を行った報告は本研究が初である。本研究では、バクテリオシンによるバイオフィルム殺菌メカニズムを詳細に解析し、ナイシンとラクティシン Q といった孔形成バクテリオシンによる細胞膜上への孔形成とそれに伴う細胞内 ATP の漏出がバイオフィルムの殺菌において重要であることを明らかにした。MRSA 感染の治療に使用されるバンコマイシンは、同一条件下においてバイオフィルムに対する殺菌作用を示さず、バイオフィルム殺菌における孔形成バクテリオシンの優位性が示された。

<課題となった点>

作用機序の異なる複数のバクテリオシンを大量に精製し、バイオフィルム殺菌効果を比較する必要があったが、世界有数のバクテリオシン生産菌ライブラリーと独自の精製技術を有する九州大学農学研究院とバイオフィルム解析技術を有する慈恵医大が緊密に連携を行うことで克服することができた。本研究で有効性が見出されたナイシン A は、バイオフィルムを形成した黄色ブドウ球菌の約 90%を迅速に殺菌したが、臨床応用を想定した場合、さらに強力な効果を示すペプチドの取得が望まれる。また、ナイシン耐性を示す 10%の集団が、どのようなメカニズムでナイシンの作用から逃れているかを理解することは、バイオフィルム感染症をコントロールする上での今後の重要な課題である。

⑤臨床におけるバイオフィルムの解析に基づいた治療法・予防法の考案（主担：細菌叢解析班）

近年ではカテーテル、ペースメーカー、人工関節、人工呼吸器など様々な医療用デバイスが広く使用されるが、それらのデバイス表面に細菌がバイオフィルムを形成することで引き起こされるバイオフィルム感染症が幅広い診療科で問題となっている。バイオフィルム感染症に対する治療方針を立てるうえで、原因菌種を同定することは極めて重要である。感染源として疑われたデバイスについては、臨床検査部門において培養と菌種同定試験が行われる。しかしながら、培養検査の結果が陰性となり、菌種の同定に至らないケースもしばしば存在する。また、感染の症状がない患者由来のデバイスについては培養検査が行われないのが通常であるが、バイオフィルムが形成されているが不顕性である可能性も考えられる。本研究では、臨床において採取されたデバイス（中心静脈 (CV) カテーテル、ペースメーカー）において形成されるバイオフィルムについて解析を行った。なお本研究は、学内における倫理委員会および臨床研究委員会による承認後、患者の同意を得て行われた。

⑤-1 中心静脈カテーテル

中心静脈 (CV) カテーテル 161 検体について、次世代シーケンサーを用いた網羅的菌叢解析を行った。161 検体のうち、56 検体はバイオフィルム感染症が疑われた患者由来であり、105 検体は感染症状のない患者由来であった。まず、カテーテル表面に付着した細菌のゲノム DNA を抽出するための条件を検討し、超音波破碎とセラミックビーズを組み合わせることで効率的にゲノム DNA が抽出できることを見出した。次に、抽出したゲノム DNA を鋳型として 16S rDNA の V3-V4 領域を PCR による増幅を行い、次世代シーケンサー (illumina MiSeq) を用いた菌叢解析を行った。感染の疑われた 56 検体のうち、検査部門における培養検査が陽性となったものは 4 検体であった。そのうち 3 検体について PCR 陽性となり、培養法と比較した場合の感度は 75%であった。次世代シーケンスの結果から、PCR 陽性であった 3 検体からは、いずれにおいても培養結果と一致する細菌が検出された。そのうち 2 検体はそれぞれ *Serratia* または *Staphylococcus* が菌叢の 90%以上を占めていた。一方、残りの 1 検体からは *Staphylococcus* (42%)、*Klebsiella* (38%)、Enterobacteriaceae (11%)、*Corynebacterium* (6%) が検出され、複数菌種による混合感染が生じている可能性が示唆された。感染が疑われたもの

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

の培養陰性だった 52 検体のうち、8 検体が PCR 陽性であった。そのうち 7 検体からは *Staphylococcus* がほぼ単独で検出され、残り 1 検体からは Enterococcaceae がほぼ単独で検出された。また、感染の症状がなかった患者由来の検体 105 検体のうち、PCR が陽性となったのは 4 検体であった (3.8%)。そのうち 3 検体からは *Staphylococcus* がほぼ単独で検出され、残り 1 検体からは Enterococcaceae が約 80% の優勢菌種として検出された。Enterococcaceae が検出された患者については、カテーテル抜去以前に手術部位感染に対する治療歴があり、その際にドレーン浸出液の培養で Enterococcaceae が検出されていた。よって、血流を介して CV カテーテルに付着した菌が検出されたものと推察された。

⑤-2 心臓ペースメーカー

ペースメーカーの定期交換に伴い取り出された使用済みペースメーカー 31 検体について解析を行った。なお、いずれの患者においても感染の症状は認められなかった。ペースメーカーを血液寒天培地にスタンプし、好気および嫌気条件下で 3 日間培養したところ、8 検体が培養陽性となり、*Propionibacterium acnes* (7 株)、*Staphylococcus hominis* (1 株) と同定された。*P. acnes* について Multilocus sequence typing による分子系統解析を行ったところ、ST2 (2 株)、ST4 (1 株)、ST53 (1 株)、ST69 (2 株)、新規 ST (1 株) に帰属された。In vitro におけるバイオフィーム形成を評価した結果、ST2 の 1 株を除く 6 株はグルコース依存的なバイオフィーム形成を示した。酵素感受性試験の結果、DNase I はすべての株のバイオフィーム形成を強く阻害したのに対し、proteinase K と dispersin B に対する感受性は株によって異なっていた。細胞外マトリクスに含まれる dsDNA、RNA、タンパク質、多糖の量は株によって違いが認められ、また同一 ST 間では各構成成分の存在比に類似性があった。さらに、透過型電子顕微鏡と大気圧走査型電子顕微鏡を使用してバイオフィームの微細構造を高分解能で観察した結果、溶菌に伴って細胞質成分が漏出する様子や、細胞間を繋ぐ線維状構造が観察され、これらの成分がバイオフィーム形成に関与していることが示唆された (学会 * 45、51、61、80)。

<特に優れた研究成果>

CV カテーテルから微量の細菌 DNA を効率的に抽出・精製する手法の開発に多くの時間を要したものの、最終的に高感度で信頼性の高い方法を開発することができた。現在まで CV カテーテルに付着した細菌を次世代シーケンサーで解析した報告例はなく、本研究が関連分野に与えるインパクトは大きい。我々が開発した方法は、培養法に匹敵する感度で細菌の同定が可能であり、混合感染の場合には菌叢情報を同時に取得できる。また、感染があるものの何らかの要因で培養陰性となった検体においても、約 15% の割合で細菌を検出しており、新たな診断法としての実用化が期待される。ペースメーカーの解析では、感染症状が見られず培養試験が行われてこなかった検体に皮膚常在菌である *P. acnes* が高頻度でバイオフィームを形成していることが示された。*P. acnes* のバイオフィーム形成メカニズムに関してはこれまでほとんど分かっていなかったが、本研究により ST に依らず細胞外の DNA が *P. acnes* バイオフィームの形成に重要であることが初めて明らかになった。

<課題となった点>

代表研究者を責任者とする連携促進室を設置することで、通常の業務の性質が異なる基礎研究部門と臨床研究部門のスムーズな連携を図った。研究成果を臨床診断に応用するためには、より多くの検体についてデータを蓄積するとともに、臨床医師と基礎研究者の連携体制を今後も継続し、臨床症状とデバイスの細菌叢データの関連性についての理解をより一層深める必要がある。

<自己評価の実施結果と対応状況>

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

2012年9月に東京慈恵会医科大学においてプロジェクト参加研究者によるキックオフミーティングを開催し、プロジェクトの概要と各研究者の連携について議論を行った。2013年以降は成果報告会を毎年4月または5月に開催しており、各グループの進捗状況や研究計画・予算の妥当性、連携体制について内部評価を行ってきた。11-(2)に示す3名の内部評価委員からは研究内容と成果について評価を受けた。主な指摘を受けた点(下線)とその対応(⇒)については以下の通りである。

・学内外との共同研究、研究者間の緊密な連携を促進すべきである。

⇒プロジェクト開始時からの学外共同研究機関である九州大学農学研究院と産業技術総合研究所に加え、熊本大学発生医学研究所との共同研究を行い、成果を発表した。学内での小セミナーを開催するとともに、日本細菌学会と連携しインターラボセミナー(2014年1月25日、於:東京大学大学院薬学系研究科、2014年11月26日、於:学習院大学理学部)を開催したほか、日本バイオフィーム学会と連携して第1回バイオフィーム研究者若手ワークショップ(2016年7月1日 於:早稲田大学先端生命医科学センター)を開催した。

・先進解析技術のさらなる醸成を図るべきである。

⇒大気圧走査電子顕微鏡によるバイオフィーム解析技術を確立し、論文発表した。

・大学院生・若手研究者の育成に留意すべきである。

⇒本プロジェクトの研究で2015年度に1名が博士号を取得し、2016年度より細菌学講座で助教として研究に取り組んでいる。現在は2名の学生が博士課程に在籍している。1名が2017年度より日本学術振興会特別研究員(DC2)に採択された。また、コネチカット州グリニッジ高校よりTakema Kajita氏を訪問研究者として受け入れ、研究指導を行った(2015年7月)。その他にも、学部学生数名を受入れ、研究指導を行っている。

<外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

評価の概要と指摘された点(下線)および対応状況(⇒)は下記の通りである。

○東京大学大学院 新領域創成科学研究科 教授 小林一三 博士

バイオフィーム阻害化合物を同定し、その作用機構が細胞外多糖の合成阻害であることを示すという画期的な成果を挙げている。本プロジェクトによってバイオフィーム制圧の我が国における研究拠点が作られることになるだろう。

・OMICS 解析としてはプロテオーム、トランスクリプトームだけでなく、メタボローム解析を行うことも重要であろう。

⇒バイオフィーム阻害化合物が代謝に与える影響をメタボローム解析によって評価し、細胞外多糖前駆体の合成が低下することを見出した。

・大気圧走査電子顕微鏡は他のイメージング手法との組み合わせによるユニークな成果を期待する。

⇒蛍光免疫染色および透過電子顕微鏡観察との組み合わせによってバイオフィーム形成メカニズムの一端を明らかにすることができた。

・臨床と基礎の距離を感じる。人工デバイスよりも菌量が多い自然の病態でできているバイオフィームの方が成果に繋がるのでは？

⇒心臓外科および外科との連携を促進し、ペースメーカーとCVカテーテルのバイオフィームの解析を行った。デバイスの菌量の問題については、DNA抽出法やPCR条件の検討によりクリアすることができた。

○東京大学 大気海洋研究所 教授 小暮一啓 博士

ECMの効率的な抽出法の開発と新たなタンパク質・核酸成分の発見、大規模スクリーニングによるバイオフィーム阻害化合物の発見、バクテリオシンによるバイオフィーム殺菌技術の開発、ペースメーカーにバイオフィーム構成員としてアクネ菌が存在を見出したことは学術的にも医療的にも意義のあるものであったと考える。研究成果を国際誌、和文解説、国内外の学会

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

で発表しており、その成果の発表に十分努力してきたと判断できる。

○国立感染症研究所 細菌第一部 第六室 室長 泉福英信 博士

スクリーニング自動化システム、大気圧走査電子顕微鏡を購入し、研究に取り入れ、多くの研究成果を積み重ねている。特に大気圧走査電子顕微鏡は今まで不可能だった液中観察が可能になり、多くの利点を有する。スクリーニングで得た化合物の阻害メカニズムの検討も十分なされており、研究成果が期待されるものである。

・臨床部門の様々な科との連携を積極的に深めていく必要がある。

⇒2015 年度より呼吸器内科がプロジェクトに参加した。2015 年度より整形外科から大学院生が細菌学講座に派遣され、研究を行っている。基礎と臨床の緊密な連携によって臨床症状に基づいた細菌叢データの解釈が可能となった。

・大学院生の受け入れ、小セミナーの開催などを積極的に行った方がよい。

⇒「自己評価の実施結果と対応状況」を参照。

・外部機関からの研究者との交流、海外研究者の招聘、シンポジウムの開催などを行い、研究成果の客観的な意見を取り入れる場をもっと作る方がよい。

⇒Université Pierre et Marie Curie (フランス)より Dr. Lopes Anne-Aurelie を訪問研究者として受け入れた(2016年1月～6月)。また、2017年1月より、JST ERATO「野村集団微生物制御プロジェクト(2015～2020年度)」に参画し、外部機関からの研究者との交流の場を広げている。さらに、パスツール研究所(フランス)と「パスツール・慈恵 合同シンポジウム」を開催した(2017年4月24日)。

<研究期間終了後の展望>

学内における先端医学推進拠点群の中に、バイオフィーム感染症に特化したセンターを設置し、国内のバイオフィーム研究拠点として一連の研究を発展・継続させる計画である。具体的には、カテーテル感染モデルを用いたバイオフィーム阻害化合物の評価(パスツール研究所との共同研究)、ナイシンよりもバイオフィーム殺菌効果の高いバクテリオシンの探索、様々な臨床検体におけるバイオフィームの菌叢解析などを検討している。

<研究成果の副次的効果>

・バイオフィーム阻害薬の開発に向けた創薬基盤研究

バイオフィーム形成を選択的に阻害する医薬品は現時点で上市されておらず、その作用機序を解明することは First in class の画期的な新薬開発に繋がる。このような薬剤が実用化されれば、バイオフィーム感染症のリスクが高い患者(侵襲の大きな手術後、高齢者、免疫抑制剤投与など)に対する予防薬としての使用が可能になると考えられる。また、バイオフィーム感染が疑われるものの生命維持等の観点からデバイス除去が望ましくない患者に対しては、適切な抗菌薬と併用することで、より効果的な治療が可能になるものと期待される。

・新規バイオフィーム殺菌技術の開発

臨床においては、中心静脈カテーテルに形成されたバイオフィームの殺菌を行うため、カテーテル内腔を高濃度の抗菌薬(バンコマイシン、ゲンタマイシン等)で一定時間満たすカテーテルロック療法が行われている。ナイシン A は MRSA のバイオフィームを迅速かつ強力に殺菌できるため、カテーテルロック療法の薬液としての実用化が期待される。

・臨床におけるバイオフィームの解析に基づいた治療法・予防法の考案

本研究で開発した手法は、培養陰性となるデバイスにおける細菌の検出や、培養法では得ることができない細菌叢情報の取得を可能にすることから、バイオフィーム感染症の新たな診断法として実用化が期待される。現時点では診断に次世代シーケンサーを用いることに時間と費用の壁があるものの、解析技術の発展によって実現の可能性は十分にある。

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) バイオフィルム (2) 難治性感染症 (3) 薬剤耐性菌
 (4) 化合物スクリーニング (5) 黄色ブドウ球菌 (6) バクテリオシン
 (7) 細胞外マトリクス(ECM) (8) 分子メカニズム

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付すこと。

<雑誌論文>

1. *杉本真也: 遺伝子発現の揺らぎを瞬時に可視化する新手法の開発. 化学と生物. 印刷中
2. *Perez RH, Sugino H, Ishibashi N, Zendo T, Wilaipun P, Leelawatcharamas V, Nakayama J, Sonomoto K: Mutations near the cleavage site of enterocin NKR-5-3B prepeptide revealed new insights into its biosynthesis. Microbiology. 163(4):431-441, 2017(査読有)
3. Elsayed KM, Islam MR, Abdullah-Al-Mahin, Nagao J, Zendo T, Sonomoto K: LiaRS reporter assay: A simple tool to identify lipid II binding moieties in lantibiotic nukacin ISK-1. J Biosci Bioeng. 123(3):398-401, 2017(査読有)
4. Hossain MA, Yanagisawa H, Miyajima T, Wu C, Takamura A, Akiyama K, Itagaki R, Eto K, Iwamoto T, Yokoi T, Kurosawa K, Numabe H, Eto Y: The severe clinical phenotype for a heterozygous Fabry female patient correlates to the methylation of non-mutated allele associated with chromosome 10q26 deletion syndrome. Mol Genet Metab. 120(3): 173-179, 2017(査読有)
5. Hashimoto M, Kuriwa S, Kojima A, Shinhuku K, Sato A, Sasaki R, Hasegawa T, Ito A, Utsumi H, Yanagisawa H, Wakui H, Minagawa S, Kojima J, Numata T, Hara H, Araya J, Kaneko Y, Nakayama K, Kuwano K: Mild Lung Tuberculosis in a Patient Suffering from Status Epilepticus Caused by the Syndrome of Inappropriate Secretion of Antidiuretic Hormone (SIADH). Intern Med. 56(4): 429-433, 2017(査読有)
6. Horikiri T, Hara H, Saito N, Araya J, Takasaka N, Utsumi H, Yanagisawa H, Hashimoto M, Yoshii Y, Wakui H, Minagawa S, Ishikawa T, Shimizu K, Numata T, Arihiro S, Kaneko Y, Nakayama K, Matsuura T, Matsuura M, Fujiwara M, Okayasu I, Ito S, Kuwano K: Increased levels of prostaglandin E-major urinary metabolite (PGE-MUM) in chronic fibrosing interstitial pneumonia. Respir Med. 122: 43-50, 2017(査読有)
7. Yanagisawa H, Hashimoto M, Minagawa S, Takasaka N, Ma R, Moermans C, Ito S, Araya J, Budelsky A, Goodsell A, Baron JL, Nishimura SL: Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 312(1): L122-L130, 2017(査読有)
8. 西原弘人, 小林謙一郎, 坂本直也, 岩淵千太郎, 河野緑, 政木隆博, 松浦知和: 東京都立墨東病院の感染症科外来患者における糞便からの ESBL 産生腸内細菌の検出状況について. 医学検査. 66(2): 141-146, 2017(査読有)
9. Fujiwara Y, Shiba H, Nakabayashi Y, Otsuka M, Yanaga K: Hepatic abscess in the Spiegel lobe caused by foreign body penetration: report of a case report. Surg Case Rep. 3(1): 24, 2017(査読有)
10. Miyasaka T, Kurosaka D, Saito M, Omori T, Ikeda R, Marumo K: Accuracy of computed tomography-based navigation-assisted total knee arthroplasty: outlier analysis. J Arthroplasty. 32: 47-52, 2017(査読有)
11. Kimura T, Kubota M, Taguchi T, Suzuki N, Hattori A, Marumo K: Evaluation of first-ray mobility in patients with hallux valgus using weight-bearing CT and a 3-DAnalysis system. A comparison with normal feet. J Bone Joint Surg Am. 99: 247-255, 2017(査読有)
12. Kimura S, Saito M, Kida Y, Seki A, Isaka Y, Marumo K: Effects of raloxifene and alendronate on

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

- non-enzymatic collagen cross-links and bone strength in ovariectomized rabbits in sequential treatments after daily human parathyroid hormone (1-34) administration. *Osteoporosis International*. 28(3): 1109-1119, 2017(査読有)
13. Yamakami K, Tsumori H, Shimizu Y, Sakurai Y, Nagatoshi K, Sonomoto K: Cationic lipid content in liposome-encapsulated nisin improves sustainable bactericidal activity against *Streptococcus mutans*. *Open Dent J*. 10:360-6, 2016(査読有)
 14. Iwatani S, Ishibashi N, Flores FP, Zendo T, Nakayama J, Sonomoto K: LntR, a TetR-family transcriptional regulator, positively regulates lactacin Q production in *Lactococcus lactis* QU 5. *FEMS Microbiol Lett*. 363(18), 2016(査読有)
 15. Kawada-Matsuo M, Tatsuno I, Arai K, Zendo T, Oogai Y, Noguchi K, Hasegawa T, Sonomoto K, Komatsuzawa H. Two-component systems involved in susceptibility to nisin A in *Streptococcus pyogenes*. *Appl Environ Microbiol*. 82(19):5930-9, 2016
 16. Fujioka K, Iwamoto T, Shima H, Tomaru K, Saito H, Ohtsuka M, Yoshidome A, Kawamura Y, Manome Y: The Powdering Process with a Set of Ceramic Mills for Green Tea Promoted Catechin Extraction and the ROS Inhibition Effect. *Molecules*. 21(4): 474, 2016(査読有)
 17. Tajima A, Murai N, Murakami Y, Iwamoto T, Migita T, Matsufuji S: Polyamine regulating protein antizyme binds to ATP citrate lyase to accelerate acetyl-CoA production in cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 471(4): 646-651, 2016(査読有)
 18. Nagayoshi Y, Kumagae K, Mori K, Tashiro K, Nakamura A, Fujino Y, Hiromasa Y, Iwamoto T, Kuhara S, Ohshima T, Doi K: Physiological Properties and Genome Structure of the Hyperthermophilic Filamentous Phage ϕ OH3 Which Infects *Thermus thermophilus* HB8. *Front Microbiol*. 7: 1-11, 2016(査読有)
 19. Kuwano K, Araya J, Hara H, Minagawa S, Takasaka N, Ito S, Kobayashi K, Nakayama K: Cellular senescence and autophagy in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). *Respir Investig*. 54(6): 397-406, 2016(査読有)
 20. Kadota T, Fujita Y, Yoshioka Y, Araya J, Kuwano K, Ochiya T: Extracellular Vesicles in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int J Mol Sci*. 17(11): pii: E1801, 2016(査読有)
 21. Sato N, Takasaka N, Yoshida M, Tsubouchi K, Minagawa S, Araya J, Saito N, Fujita Y, Kurita Y, Kobayashi K, Ito S, Hara H, Kadota T, Yanagisawa H, Hashimoto M, Utsumi H, Wakui H, Kojima J, Numata T, Kaneko Y, Odaka M, Morikawa T, Nakayama K, Kohrogi H, Kuwano K: Metformin attenuates lung fibrosis development via NOX4 suppression. *Respir Res*. 17(1): 107, 2016(査読有)
 22. Yoshii Y, Shimizu K, Morozumi M, Chiba N, Ubukata K, Uruga H, Hanada S, Wakui H, Ito S, Takasaka N, Minagawa S, Kojima J, Numata T, Hara H, Kawaishi M, Saito K, Araya J, Kaneko Y, Nakayama K, Kishi K, Kuwano K: Identification of pathogens by comprehensive real-time PCR versus conventional methods in community-acquired pneumonia in Japanese adults. *Infect Dis (Lond)*. 48(11-12): 782-788, 2016(査読有)
 23. Kobayashi K, Araya J, Minagawa S, Hara H, Saito N, Kadota T, Sato N, Yoshida M, Tsubouchi K, Kurita Y, Ito S, Fujita Y, Takasaka N, Utsumi H, Yanagisawa H, Hashimoto M, Wakui H, Kojima J, Shimizu K, Numata T, Kawaishi M, Kaneko Y, Asano H, Yamashita M, Odaka M, Morikawa T, Nakayama K, Kuwano K: Involvement of PARK2-Mediated Mitophagy in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Pathogenesis. *J Immunol*. 197(2): 504-516, 2016(査読有)
 24. Inoue T, Hashimoto K, Sakamoto Y, Yoshitake M, Matsumura Y, Takagi T, Kinami H: Left ventricular pseudoaneurysm after reimplantation procedure. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 64: 224-226, 2016(査読有)
 25. Inoue T, Hashimoto K, Sakamoto Y, Nagahori R, Yoshitake M, Matsumura Y, Takagi T, Kinami H: Spontaneous closure of a large left ventricular pseudoaneurysm after mitral valve replacement. *Gen Thorac*

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

Cardiovasc Surg. 64: 337-339, 2016(査読有)

26. Furukawa K, Gocho T, Shirai Y, Iwase R, Haruki K, Fujiwara Y, Shiba H, Misawa T, Yanaga K: The decline of amylase level of pancreatic juice after pancreaticoduodenectomy predicts postoperative pancreatic fistula. *Pancreas*. 45(10): 1474-1477, 2016(査読有)
27. Haruki K, Shiba H, Shirai Y, Horiuchi T, Iwase R, Fujiwara Y, Furukawa K, Misawa T, Yanaga K: The C-reactive protein to albumin ratio predicts long-term outcomes in patients with pancreatic cancer after pancreatic resection. *World J Surg*. 40(9): 2254-2260, 2016(査読有)
28. Haruki K, Shiba H, Horiuchi T, Shirai Y, Iwase R, Fujiwara Y, Furukawa K, Misawa T, Yanaga K: Neutrophil to lymphocyte ratio predicts therapeutic outcome after pancreaticoduodenectomy for carcinoma of the ampulla of Vater. *Anticancer Res*. 36(1): 403-408, 2016(査読有)
29. Hamura R, Haruki K, Tsutsumi J, Takayama S, Shiba H, Yanaga K: Spontaneous biliary peritonitis with common bile duct stones: report of a case. *Surg Case Rep*. 2(1): 103, 2016(査読有)
30. Yoshida M, Funasaki H, Marumo K: Efficacy of autologous leukocyte-reduced platelet-rich plasma therapy for patellar tendinopathy in a rat treadmill model. *Muscles Ligaments Tendons Journal*. 6(2): 205-215, 2016(査読有)
31. Kayama T, Mori M, Ito Y, Matsushima T, Nakamichi R, Suzuki H, Ichinose S, Saito M, Marumo K, Asahara H: Gtf2ird1-dependent Mohawk (Mkx) expression regulates mechanosensing properties of the tendon. *Mol Cell Biol*. 36: 1297-1309, 2016(査読有)
32. Taguchi T, Kubota M, Saito M, Hattori H, Kimura T, Marumo K: Quantitative and qualitative change of collagen of achilles tendons in rats with systemic administration of glucocorticoids. *Foot Ankle Int*. 37: 327-333, 2016(査読有)
33. *Sugimoto S, Okuda K, Miyakawa R, Sato M, Arita-Morioka K, Chiba A, Yamanaka K, Ogura T, Mizunoe Y, Sato C: Imaging of bacterial multicellular behaviour in biofilms in liquid by atmospheric scanning electron microscopy. *Sci Rep*. 6: 25889, 2016(査読有)
34. Iwase T, Ogura Y, Hayashi T, Mizunoe Y: Complete Genome Sequence of *Klebsiella pneumoniae* YH43. *Genome Announc*. 4(2): pii: e00242-16, 2016(査読有)
35. 水之江義充, 杉本真也, 奥田賢一: バイオフィルム感染症制圧に向けての展望. *家畜感染症学会誌*. 5(4): 113-120. 2016
36. Iwase T, Ogura Y, Hayashi T, Mizunoe Y: Complete Genome Sequence of *Klebsiella oxytoca* Strain JKo3. *Genome Announc*. 4(6): pii: e01221-16. 2016(査読有)
37. *Sugimoto S: High sensitive method for monitoring RNA metabolism. *Journal of Environmental Biotechnology*. 16(1): 45-50, 2016 (Invited Review)
38. Perez RH, Ishibashi N, Inoue T, Himeno K, Masuda Y, Sawa N, Zendo T, Wilaipun P, Leelawatcharamas V, Nakayama J, Sonomoto K: Functional analysis of genes involved in the biosynthesis of enterocin NKR-5-3B, a novel circular bacteriocin. *J Bacteriol*. 198(2):291-300, 2015(査読有)
39. Ishibashi N, Zendo T, Koga S, Shigeri Y, Sonomoto K: Molecular characterization of the genes involved in the secretion and immunity of lactococcin Q, a two-peptide bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* QU 4. *Microbiology*. 161(11):2069-78 2015(査読有)
40. *Himeno K, Rosengren KJ, Inoue T, Perez RH, Colgrave ML, Lee HS, Chan LY, Henriques ST, Fujita K, Ishibashi N, Zendo T, Wilaipun P, Nakayama J, Leelawatcharamas V, Jikuya H, Craik DJ, Sonomoto K: Identification, characterization, and three-dimensional structure of the novel circular bacteriocin,

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

Enterocin NKR-5-3B, from *Enterococcus faecium*. *Biochemistry*. 54(31):4863-76, 2015(査読有)

41. *Ishibashi N, Seto H, Koga S, Zendo T, Sonomoto K: Identification of Lactococcus-specific bacteriocins produced by Lactococcal isolates, and the discovery of a novel bacteriocin, Lactococcin Z. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 7(3):222-31, 2015(査読有)
42. Shimafuji C, Noguchi M, Nishie M, Nagao J, Shioya K, Zendo T, Nakayama J, Sonomoto K: In vitro catalytic activity of N-terminal and C-terminal domains in NukM, the post-translational modification enzyme of nukacin ISK-1. *J Biosci Bioeng*. 120(6):624-9, 2015(査読有)
43. *Maky MA, Ishibashi N, Zendo T, Perez RH, Doud JR, Karmi M, Sonomoto K: Enterocin F4-9, a novel O-linked glycosylated bacteriocin. *Appl Environ Microbiol*. 81(14):4819-26, 2015(査読有)
44. *Rumjuankiat K, Perez RH, Pilasombut K, Keawsompong S, Zendo T, Sonomoto K, Nitisinprasert S: Purification and characterization of a novel plantaricin, KL-1Y, from *Lactobacillus plantarum* KL-1. *World J Microbiol Biotechnol*. 31(6):983-94, 2015(査読有)
45. Mafune A, Iwamoto T, Tsutsumi Y, Nakashima A, Yamamoto I, Yokoyama K, Yokoo T, Urashima M: Associations among serum trimethylamine-N-oxide (TMAO) levels, kidney function and infarcted coronary artery number in patients undergoing cardiovascular surgery: a cross-sectional study. *Clin Exp Nephrol*. 20(5): 731-739, 2015(査読有)
46. Avila LA, Aps L, Sukthankar P, Ploscariu N, Gudlur S, Simo L, Szoszkiewicz R, Park Y, Lee SY, Iwamoto T, Ferreira LC, Tomich JM: Branched amphiphilic cationic oligopeptides from peptidexes with DNA: A study of their biophysical properties and transfection. *Mol Pharmaceutics*. 12(3): 706-715, 2015(査読有)
47. Fujita Y, Araya J, Ochiya T: Extracellular vesicles in smoking-related lung diseases. *Oncotarget*. 6(41): 43144-43145, 2015(査読有)
48. Fujita Y, Araya J, Ito S, Kobayashi K, Kosaka N, Yoshioka Y, Kadota T, Hara H, Kuwano K, Ochiya T: Suppression of autophagy by extracellular vesicles promotes myofibroblast differentiation in COPD pathogenesis. *J Extracell Vesicles*. 4: 28388, 2015(査読有)
49. Shimizu K, Yoshii Y, Morozumi M, Chiba N, Ubukata K, Uruga H, Hanada S, Saito N, Kadota T, Ito S, Wakui H, Takasaka N, Minagawa S, Kojima J, Hara H, Numata T, Kawaishi M, Saito K, Araya J, Kaneko Y, Nakayama K, Kishi K, Kuwano K: Pathogens in COPD exacerbations identified by comprehensive real-time PCR plus older methods. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 10: 2009-2016, 2015(査読有)
50. Numata T, Araya J, Yoshii Y, Shimizu K, Hara H, Nakayama K, Kuwano K: Clinical efficacy of anti-glycopeptidolipid-core IgA test for diagnosing *Mycobacterium avium* complex infection in lung. *Respirology*. 20(8): 1277-1281, 2015(査読有)
51. Fujita Y, Kosaka N, Araya J, Kuwano K, Ochiya T: Extracellular vesicles in lung microenvironment and pathogenesis. *Trends Mol Med*. 21(9): 533-542, 2015(査読有)
52. Ito S, Araya J, Kurita Y, Kobayashi K, Takasaka N, Yoshida M, Hara H, Minagawa S, Wakui H, Fujii S, Kojima J, Shimizu K, Numata T, Kawaishi M, Odaka M, Morikawa T, Harada T, Nishimura SL, Kaneko Y, Nakayama K, Kuwano K: PARK2-mediated mitophagy is involved in regulation of HBEC senescence in COPD pathogenesis. *Autophagy*. 11(3): 547-559, 2015(査読有)
53. Bando K, Hashimoto K: Closure of the Left Atrial Appendage During Cardiac Surgery -Why, When and How?-. *Circ J*. 79: 2541-2543, 2015(査読有)
54. Bando K, Schaff HV, Sato T, Hashimoto K, Cameron DE: A Multidisciplinary Approach to Ensure Scientific Integrity in Clinical Research. *Ann Thorac Surg*. 100: 1534-1540, 2015(査読有)

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

55. Ko Y, Morita K, Abe T, Nakao M, Hashimoto K: Variability of Pulmonary Regurgitation in Proportion to Pulmonary Vascular Resistance in a Porcine Model of Total Resection of the Pulmonary Valve: Implications for Early- and Long-Term Postoperative Management of Right Ventricular Outflow Tract Reconstruction With Resulting Pulmonary Valve Incompetence. *World J Pediatr Congenit Heart Surg.* 6: 502-510, 2015(査読有)
56. Inoue T, Hashimoto K, Bando K, Yoshitake M: Left ventricular pseudo-false aneurysm perforating into the right ventricle. *Interactive Cardio Vascular and Thoracic Surgery.* 21: 137-139, 2015(査読有)
57. Fujiwara Y, Shiba H, Shirai Y, Iwase R, Haruki K, Furukawa K, Futagawa Y, Misawa T, Yanaga K: Perioperative serum albumin correlates with postoperative pancreas fistula after pancreaticoduodenectomy. *Anticancer Res.* 35: 499-503, 2015(査読有)
58. Saito M, Kida Y, Nisizawa T, Arakawa S, Okabe H, Seki A, Marumo K: Effects of 18-month treatment with bazedoxifene on enzymatic immature and mature cross-links and non-enzymatic advanced glycation end products, mineralization, and trabecular microarchitecture of vertebra in ovariectomized monkeys. *Bone.* 81: 573-580, 2015(査読有)
59. Saito M, Grynblas MD, Burr DB, Allen MR, Smith SY, Doyle N, Amizuka N, Hasegawa T, Kida Y, Marumo K, Saito H: Treatment with eldecalcitol positively affects mineralization, microdamage, and collagen crosslinks in primate bone. *Bone.* 73: 8-15, 2015(査読有)
60. Saito M, Marumo K: New treatment strategy against osteoporosis: Advanced glycation end products as a factor for poor bone quality. *Glycative Stress Reseach.* 1: 1-14, 2015(査読有)
61. Saito M, Marumo K: Effects of collagen crosslinking on bone material properties in health and disease. *Calcified Tissue International (Review)* 97: 242-261, 2015(査読有)
62. Funasaki H, Hayashi H, Sugiyama H, Marumo K: Arthroscopic reduction and internal fixation for fracture of the lateral process of the talus. *Arthroscopy Techniques.* 4: e81-86, 2015(査読有)
63. Funasaki H, Hayashi H, Sakamoto K, Tsuruga R, Marumo K: Arthroscopic release of flexor hallucis longus tendon sheath in female ballet dancers. -Dynamic pathology, surgical technique and return to dancing performance -. *Arthroscopy Techniques.* 4: 769-774, 2015(査読有)
64. Yoshida M, Funasaki H, Kubota M, Marumo K: Therapeutic effects of high molecular weight hyaluronan injections for tendinopathy in a rat model. *Journal of Orthopaedic Science.* 20: 186-195, 2015(査読有)
65. Kato T, Sugiyama H, Hayama T, Katsumata S, Otani T, Marumo K: Cementless total hip arthroplasty in hip dysplasia with an extensively porous-coated cylindrical stem modified for Asians: A 12-year follow-up study. *The Journal of Arthroplasty.* 30: 1014-1018, 2015(査読有)
66. Kato S, Saito M, Funasaki H, Marumo K: Distinctive collagen maturation process in fibroblasts derived from rabbit anterior cruciate ligament, medial collateral ligament, and patellar tendon in vitro. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 23: 1384-1392, 2015(査読有)
67. Kimura T, Kubota M, Taguchi T, Suzuki N, Hattori A, Marumo K: Ability of a novel foot and ankle loading device to reproduce loading conditions in the standing position during computed tomography. *J Med Devices.* 9(4): 044506, 2015(査読有)
68. Arakawa S, Saito M, Kubota M, Marumo K: Applying low-intensity pulsed ultrasounds (LIPUS) to a zoledronate-associated atypical femoral shaft fracture without cessation of zoledronate therapy for 3 years follow up: A case report. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 12(3): 269-272, 2015(査読有)
69. Tanaka T, Kumagai Y, Chazono M, Kitasato S, Kakuta A, Marumo K: A novel evaluation system to monitor bone formation and β -tricalcium phosphate resorption in opening wedge high tibial osteotomy. *Knee Surg*

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

Sports Traumatol Arthrosc. 23(7): 2007–2011, 2015 (査読有)

70. Kayama T, Saito M, Marumo K: Analysis of musculoskeletal systems and their diseases. The role of extracellular matrix and its pathogenesis in musculoskeletal disorders. Clin Calcium. 25(8): 1155–1161, 2015 (査読有)
71. Matsumoto M, Matsuura T, Aoki K, Maehashi H, Iwamoto T, Ohkawa K, Yoshida K, Yanaga K, Takada K: An efficient system for secretory production of fibrinogen using a hepatocellular carcinoma cell line. Hepatol Res. 45(3): 315–325, 2015 (査読有)
72. *Koyama R, Okuda K, Matsushita K, Beppu M, Mizunoe Y: Antimicrobial and antibiofilm effects of ozonated water for prevention and treatment of bone and joint infections. J St Marianna Univ. 6(1): 1–7, 2015 (査読有)
73. *Sugimoto S, Arita–Morioka K, Mizunoe Y, Yamanaka K, Ogura T: Thioflavin T as a fluorescence probe for monitoring RNA metabolism at molecular and cellular levels. Nucleic Acids Res. 43(14): e92, 2015 (査読有)
74. *Chiba A, Sugimoto S, Sato F, Hori S, Mizunoe Y: A refined technique for extraction of extracellular matrices from bacterial biofilms and its applicability. Microb Biotechnol. 8(3): 392–403, 2015 (査読有)
75. 水之江義充, 千葉明生, 岩瀬忠行, 杉本真也: バイオフィルム細胞外マトリクスの分離・解析. 化学療法の領域. 31(11): 2158–2165, 2015
76. *Arita–Morioka K, Yamanaka K, Mizunoe Y, Ogura T, Sugimoto S: Novel strategy for biofilm inhibition by using small molecules targeting molecular chaperone DnaK. Antimicrob Agents Chemother. 59(1): 633–641, 2015 (査読有)
77. Ogura T, Nishiyama H, Suga M, Sato C: Development of an in-solution observation method using atmospheric scanning electron microscopy (ASEM). Synthesiology, 8:162–173, 2015 (査読有)
78. Roy U, Islam MR, Nagao J, Iida H, Mahin AA, Li M, Zendo T, Nakayama J, Sonomoto K: Bactericidal activity of nukacin ISK-1: an alternative mode of action. Biosci Biotechnol Biochem. 78(7):1270–3, 2014 (査読有)
79. *Perez RH, Zendo T, Sonomoto K: Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. Microb Cell Fact. 29;13 Suppl 1:S3, 2014 (査読有)
80. Ishibashi N, Himeno K, Masuda Y, Perez RH, Iwatani S, Zendo T, Wilaipun P, Leelawatcharamas V, Nakayama J, Sonomoto K: Gene cluster responsible for secretion of and immunity to multiple bacteriocins, the NKR-5-3 enterocins. Appl Environ Microbiol. 80(21):6647–55, 2014 (査読有)
81. Mu F, Masuda Y, Zendo T, Ono H, Kitagawa H, Ito H, Nakayama J, Sonomoto K: Biological function of a DUF95 superfamily protein involved in the biosynthesis of a circular bacteriocin, leucocyclicin Q. J Biosci Bioeng. 117(2):158–64, 2014 (査読有)
82. Ishizawa S, Takahashi–Fujigasaki J, Kanazawa Y, Matoba K, Kawanami D, Yokota T, Iwamoto T, Tajima N, Manome Y, Utsunomiya K: Erratum to: Sphingosine-1-phosphate induces differentiation of cultured renal tubular epithelial cells under Rho kinase activation via the S1P2 receptor. Clin Exp Nephrol. 18(6): 844–852, 2014 (査読有)
83. Dairaku T, Iwamoto T, Nishimura M, Endo M, Ohashi T, Eto Y: A practical fluorometric assay method to measure lysosomal acid lipase activity in dried blood spots for the screening of cholesteryl ester storage disease and Wolman disease. Mol Genet Metab. 111(2): 193–196, 2014 (査読有)
84. Minagawa S, Lou J, Seed RI, Cormier A, Wu S, Cheng Y, Murray L, Tsui P, Connor J, Herbst R, Govaerts C, Barker T, Cambier S, Yanagisawa H, Goodsell A, Hashimoto M, Brand OJ, Cheng R, Ma R, McKnelly KJ,

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

- Wen W, Hill A, Jablons D, Wolters P, Kitamura H, Araya J, Barczak AJ, Erle DJ, Reichardt LF, Marks JD, Baron JL, Nishimura SL: Selective targeting of TGF- β activation to treat fibroinflammatory airway disease. *Sci Transl Med* .6(241): 241ra79, 2014(査読有)
85. Takasaka N, Araya J, Hara H, Ito S, Kobayashi K, Kurita Y, Wakui H, Yoshii Y, Yumino Y, Fujii S, Minagawa S, Tsurushige C, Kojima J, Numata T, Shimizu K, Kawaishi M, Kaneko Y, Kamiya N, Hirano J, Odaka M, Morikawa T, Nishimura SL, Nakayama K, Kuwano K: Autophagy induction by SIRT6 through attenuation of insulin-like growth factor signaling is involved in the regulation of human bronchial epithelial cell senescence. *J Immunol*. 192(3): 958-968, 2014(査読有)
86. Fujita Y, Yoshioka Y, Ito S, Araya J, Kuwano K, Ochiya T: Intercellular communication by extracellular vesicles and their microRNAs in asthma. *Clin Ther*. 36(6): 873-881, 2014(査読有)
87. Yoshii Y, Numata T, Ishitobi W, Takahashi N, Wakui H, Kojima J, Shimizu K, Hara H, Ishikawa T, Kawaishi M, Saito K, Araya J, Kaneko Y, Nakayama K, Kuwano K: Lung Adenocarcinoma Complicated by Trousseau's Syndrome Successfully Treated by a Combination of Anticoagulant Therapy and Chemotherapy. *Intern Med*. 53(16): 1835-1839, 2014(査読有)
88. 木藤悠子, 近藤佐知子, 泉祐子, 高木奈緒, 片山宏賢, 河野緑, 上出良一: Panton-Valentine leukocidin 産生黄色ブドウ球菌による皮膚感染症の 5 例. *臨床皮膚科*. 68(10): 796-800, 2014(査読有)
89. Hirata Y, Murai N, Yanaihara N, Saito M, Saito M, Urashima M, Murakami Y, Matsufuji S, Okamoto A: MicroRNA-21 is a candidate driver gene for 17q23-25 amplification in ovarian clear cell carcinoma. *BMC Cancer*. 14: 799, 2014(査読有)
90. Murakami Y, Ohkido M, Takizawa H, Murai N, Matsufuji S: Multiple forms of mouse antizyme inhibitor 1 mRNA differentially regulated by polyamines. *Amino Acids*. 46: 575-583, 2014(査読有)
91. Matoba K, Kawanami D, Tsukamoto M, Kinoshita J, Ito T, Ishizawa, S, Kanazawa Y, Yokota T, Murai N, Matsufuji S, Utsunomiya K: Rho-kinase regulation of TNF-alpha-induced nuclear translocation of NF-kappaB RelA/p65 and M-CSF expression via p38 MAPK in mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 307: F571-580, 2014(査読有)
92. 隈本智卓, 船水尚武, 渡部篤史, 伊藤隆介, 藤岡秀一, 岡本友好, 矢永勝彦: S状結腸憩室炎穿孔術後の創感染治療に苦慮した高度肥満患者の 1 例. *日本外科感染症学会雑誌*. 11(4): 325-329, 2014(査読有)
93. 熊谷祐, 石田祐一, 春木孝一郎, 岩瀬亮太, 奥井紀光, 伊藤隆介, 柴浩明, 二川康郎, 矢永勝彦: 当科における肝胆膵外科領域手術での術中培養と手術部位感染との関連に関する検討. *日本外科感染症学会雑誌*. 11(6): 629-633, 2014(査読有)
94. Saito M, Kida Y, Kato S, Marumo K: Diabetes, collagen, and bone quality. *Curr Osteoporos Rep*. (REVIEW) 12: 181-188, 2014(査読有)
95. Funasaki H, Kato S, Hayashi H, Marumo K: Arthroscopic excision of bone fragments in a neglected fracture of the lateral process of the talus in a junior soccer player. *Arthroscopy Techniques*. 3(3): e331-334, 2014(査読有)
96. Yoshida M, Funasaki H, Kato S, Marumo K: Gene expression analysis by quantitative real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction of the glenohumeral joint synovium in primary frozen shoulders. *Advances in Research*. 2: 635-644, 2014(査読有)
97. Maeda K, Saito M, Marumo K: Wnt signals and bone metabolism. *J Phys Fitness Sports Med*. 3: 341-345, 2014(査読有)
98. Udaka J, Fukuda N, Yamauchi H, Marumo K: Clinical definition and diagnostic criteria for sarcopenia. *J*

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

Phys Fitness Sports Med. 3(2): 269–279, 2014(査読有)

99. Shinohara A, Ueno Y, Marumo K: Weekly teriparatide therapy rapidly accelerates bone healing in pyogenic spondylitis with severe osteoporosis. Asian Spine Journal. 8(4): 498–501, 2014(査読有)
100. Matsumoto A, Ishibashi Y, Urashima M, Omura N, Nakada K, Nishikawa K, Shida A, Takada K, Kashiwagi H, Yanaga K: High UBCH10 protein expression as a marker of poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. Anticancer Res. 34: 955–961, 2014(査読有)
101. 水之江義充, 杉本真也, 岩瀬忠行: 常在細菌による黄色ブドウ球菌排除メカニズム. 呼吸器内科. 26(1): 49–52, 2014
102. 水之江義充: バイオフィルム感染症制圧の新たな試み. Bacterial Adherence & Biofilm. 27: 25–26, 2014
103. *Kinoshita T, Mori Y, Hirano K, Sugimoto S, Okuda K, Matsumoto S, Namiki T, Ebihara T, Kawata M, Nishiyama H, Sato M, Suga M, Higashiyama K, Sonomoto K, Mizunoe Y, Nishihara S, Sato C: Immuno-electron microscopy of primary cell cultures from genetically modified animals in liquid by atmospheric scanning electron microscopy. Microsc Microanal. 20(2): 470–484, 2014(査読有)
104. *Nishiyama F, Koizumi M, Ogawa K, Kitamura S, Konyuba Y, Watanabe Y, Ohbayashi N, Fukuda M, Suga M, Sato C: Atmospheric scanning electron microscope system with an open sample chamber: Configuration and applications. Ultramicroscopy, 147: 86–97, 2014(査読有)
105. *Hirano K, Kinoshita T, Uemura T, Motohashi H, Watanabe Y, Ebihara T, Nishiyama H, Sato M, Suga M, Maruyama Y, Tsuji NM, Yamamoto M, Nishihara S, Sato C: Electron microscopy of primary cell cultures in solution and correlative optical microscopy using ASEM. Ultramicroscopy. 143:52–66, 2014(査読有)
106. *Okuda K, Zendo T, Sugimoto S, Iwase T, Tajima A, Yamada S, Sonomoto K, Mizunoe Y: Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. Antimicrob Agents Chemother. 57(11): 5572–5579, 2013(査読有)
107. Kawada-Matsuo M, Yoshida Y, Zendo T, Nagao J, Oogai Y, Nakamura Y, Sonomoto K, Nakamura N, Komatsuzawa H. Three distinct two-component systems are involved in resistance to the class I bacteriocins, nukacin ISK-1 and nisin A, in *Staphylococcus aureus*. PLoS One. 8(7):e69455, 2013(査読有)
108. *Li M, Yoneyama F, Toshimitsu N, Zendo T, Nakayama J, Sonomoto K. Lethal hydroxyl radical accumulation by a lactococcal bacteriocin, lacticin Q. Antimicrob Agents Chemother. 57(8):3897–902, 2013(査読有)
109. Kawada-Matsuo M, Oogai Y, Zendo T, Nagao J, Shibata Y, Yamashita Y, Ogura Y, Hayashi T, Sonomoto K, Komatsuzawa H: Involvement of the novel two-component NsrRS and LcrRS systems in distinct resistance pathways against nisin A and nukacin ISK-1 in *Streptococcus mutans*. Appl Environ Microbiol. 79(15):4751–5, 2013(査読有)
110. Nakayama J, Yokohata R, Sato M, Suzuki T, Matsufuji T, Nishiguchi K, Kawai T, Yamanaka Y, Nagata K, Tanokura M, Sonomoto K: Development of a peptide antagonist against fsr quorum sensing of *Enterococcus faecalis*. ACS Chem Biol. 8(4):804–11, 2013(査読有)
111. Iwatani S, Horikiri Y, Zendo T, Nakayama J, Sonomoto K: Bifunctional gene cluster lnqBCDEF mediates bacteriocin production and immunity with differential genetic requirements. Appl Environ Microbiol. 79(7):2446–9, 2013(査読有)
112. Yamakami K, Tsumori H, Sakurai Y, Shimizu Y, Nagatoshi K, Sonomoto K: Sustainable inhibition efficacy of liposome-encapsulated nisin on insoluble glucan-biofilm synthesis by *Streptococcus mutans*. Pharm Biol. 51(2):267–70, 2013(査読有)

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

113. Sukthankar P, Avila LA, Whitaker S.K, Iwamoto T, Morgenstern A, Apostolidis C, Liu K, Hanzlik PR, Dadachova E, Tomich JM: Branched amphiphilic peptide capsules: Cellular uptake and retention of encapsulated solutes. *Biochim Biophys Acta*. 1838(9): 2296-2305, 2013 (査読有)
114. Sukthankar P, Gudlur S, Avila L.A, Whitaker S.K, Katz B.B, Hiromasa Y, Gao J, Thapa P, Moore D, Iwamoto T, Chen J, Tomich J.M: Branched oligopeptides form nanocapsules with lipid vesicle characteristics. *Langmuir*. 29(47): 14648-14654, 2013 (査読有)
115. Kamata Y, Kuhara A, Iwamoto T, Hayashi K, Koido S, Kimura T, Egawa S, Homma S: Identification of HLA Class I-binding Peptides Derived from Unique Cancer-associated Proteins by Mass Spectrometric Analysis. *Anticancer Res*. 33(5): 1853-1859, 2013 (査読有)
116. Araya J, Hara H, Kuwano K: Autophagy in the pathogenesis of pulmonary disease. *Intern Med*. 52(20): 2295-2303, 2013 (査読有)
117. Hara H, Araya J, Ito S, Kobayashi K, Takasaka N, Yoshii Y, Wakui H, Kojima J, Shimizu K, Numata T, Kawaishi M, Kamiya N, Odaka M, Morikawa T, Kaneko Y, Nakayama K, Kuwano K: Mitochondrial fragmentation in cigarette smoke induced-bronchial epithelial cell senescence. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 305(10): L737-746, 2013 (査読有)
118. Kojima J, Araya J, Hara H, Ito S, Takasaka N, Kobayashi K, Fujii S, Tsurushige C, Numata T, Ishikawa T, Shimizu K, Kawaishi M, Saito K, Kamiya N, Hirano J, Odaka M, Morikawa T, Hano H, Arai S, Miyazaki T, Kaneko Y, Nakayama K, Kuwano K: Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) expression in alveolar macrophages in COPD. *Respir Res*. 14: 30, 2013 (査読有)
119. Kan-o K, Matsumoto K, Inouea H, Fukuyama S, Asai Y, Watanabe W, Kurokawa M, Araya J, Kuwano K, Nakanishi Y: Corticosteroids plus long-acting beta2-agonists prevent double-stranded RNA-induced upregulation of B7-H1 on airway epithelium. *Int Arch of Allergy and Immunology*. 160(1): 27-36, 2013 (査読有)
120. Araya J, Kojima J, Takasaka N, Ito S, Fujii S, Hara H, Yanagisawa H, Kobayashi K, Tsurushige C, Kawaishi M, Kamiya N, Hirano J, Odaka M, Morikawa T, Nishimura SL, Kawabata Y, Hano H, Nakayama K, Kuwano K: Insufficient autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 304(1): L56-69, 2013 (査読有)
121. Saito N, Shimizu K, Kawaishi M, Araya J, Nakayama K, Kuwano K: A survival case of invasive thymoma accompanied by acute fulminant myocarditis. *Respirology Case Reports* 1(2): 36-38, 2013 (査読有)
122. 中山勝敏, 荒屋潤, 河石真, 桑野和善: 総論:増悪時の呼吸病態 (2) 増悪時の呼吸機能変化. *The Lung perspectives*. 21: 17-24, 2013
123. 中山勝敏, 荒屋潤, 河石真, 桑野和善: 【特集 呼吸器疾患の増悪を考える】 増悪時の呼吸機能変化. *THE LUNG-perspectives*. 21: 229-236, 2013.
124. 河野緑, 小田裕子, 木藤悠子, 石井健二, 渡邊優子, 安藤隆, 上出良一, 大西明弘: 皮膚および軟部組織膿検体より分離された Panton-Valentine leukocidin(PVL)陽性 *Staphylococcus aureus* の分子疫学解析. *臨床病理*. 61(8): 659-664, 2013 (査読有)
125. 安藤隆, 河野緑, 佐々木十能, 永野裕子, 兼本園美, 平田龍三, 杉本健一, 長谷部恵子, 吉川 晃司, 清田浩: 整形外科患者を中心にアウトブレイクを認めた toxin A 陰性 toxin B 陽性 *Clostridium difficile* 株の分子疫学的解析. *日本臨床微生物学雑誌*. 23(3): 186-193, 2013 (査読有)
126. 安藤隆, 吉川晃司, 矢ヶ部美也子, 坂本和美, 兼本園美, 河野緑, 平田龍三, 杉本健一: 当医療センターにおける血液培養採取状況と複数セット採血による臨床判定への影響. *都臨技会誌*. 41(3): 215-223, 2013 (査読有)

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

127. Matsumura Y, Kawahito K, Nakamura K, Hashimoto K: Congenitally corrected transposition of the great arteries with coexisting aortic valve stenosis in a 77-year-old woman. *Eur J Cardiothorac Surg.* 43: 442, 2013 (査読有)
128. Sakamoto Y, Hashimoto K: Update on aortic valve prosthesis-patient mismatch in Japan. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 61: 669-675, 2013 (査読有)
129. Inoue T, Kobirumaki-Shimozawa F, Kagemoto T, Fujii T, Terui T, Kusakari Y, Hongo K, Morimoto S, Ohtsuki I, Hashimoto K, Fukuda N: Depressed Frank-Starling mechanism in the left ventricular muscle of the knock-in mouse model of dilated cardiomyopathy with troponin T deletion mutation Δ K210. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 63: 69-78, 2013 (査読有)
130. Matoba K, Kawanami D, Okada R, Tsukamoto M, Kinoshita J, Ito T, Ishizawa S, Kanazawa Y, Yokota T, Murai N, Matsufuji S, Takahashi-Fujigasaki J, Utsunomiya K: Rho-kinase inhibition prevents the progression of diabetic nephropathy by downregulating hypoxia-inducible factor 1 α . *Kidney Int.* 84: 545-554, 2013 (査読有)
131. Shirai Y, Shiba H, Fujiwara Y, Eto K, Misawa T, Yanaga K: Hepatic inflammatory pseudotumor with elevated serum CA19-9 level mimicking liver metastasis from rectal cancer: report of a case. *Int Surg.* 98(4): 324-329, 2013 (査読有)
132. Fujiwara Y, Misawa T, Shiba H, Shirai Y, Iwase R, Haruki K, Furukawa K, Futagawa Y, Yanaga K: A novel postoperative inflammatory score predicts postoperative pancreatic fistula after pancreatic resection. *Anticancer Res.* 33(11): 5005-5010, 2013 (査読有)
133. Haruki K, Shiba H, Fujiwara Y, Furukawa K, Wakiyama S, Ogawa M, Ishida Y, Misawa T, Yanaga K: Negative impact of surgical site infection on long-term outcomes after hepatic resection for colorectal liver metastases. *Anticancer Res.* 33(4): 1697-1703, 2013 (査読有)
134. Haruki K, Shiba H, Fujiwara Y, Furukawa K, Wakiyama S, Ogawa M, Ishida Y, Misawa T, Yanaga K: Postoperative peripheral blood monocyte count correlates with bile leakage in patients with colorectal liver metastases after hepatic resection. *Langenbecks Arch Surg.* 398(6): 851-855, 2013 (査読有)
135. Saito M, Marumo K: Bone quality in diabetes -new insights into bone fragility-. *Frontiers in Endocrinology.* (Review) 4: 72, 2013 (査読有)
136. Tamegai H, Otani T, Fujii H, Kawaguchi Y, Hayama T, Marumo K: A modified S-ROM stem in primary total hip arthroplasty for developmental dysplasia of the hip. *The Journal of Arthroplasty.* 28: 1741-1745, 2013 (査読有)
137. Iwase T, Tajima A, Sugimoto S, Okuda K, Hironaka I, Kamata Y, Takada K, Mizunoe Y: A simple assay for measuring catalase activity: a visual approach. *Sci Rep.* 3: 3081, 2013 (査読有)
138. 岩瀬忠行, 水之江義充: 複雑系における細菌-細菌間, 細菌-宿主間の相互作用. *生化学.* 85(9): 803-806, 2013
139. 水之江義充: 院内感染とバイオフィルム. *耳鼻咽喉科展望.* 56(4): 199-203, 2013
140. 水之江義充: コレラ菌のバイオフィルム形成と生きているが培養できない(VNC)状態への移行. *顕微鏡.* 48(1): 47-50, 2013
141. Hironaka I, Iwase T, Sugimoto S, Okuda K, Tajima A, Yanaga K, Mizunoe Y: Glucose triggers ATP secretion from bacteria in a growth-phase-dependent manner. *Appl Environ Microbiol.* 79(7): 2328-2335, 2013 (査読有)
142. *Sugimoto S, Iwamoto T, Takada K, Okuda K, Tajima A, Iwase T, Mizunoe Y: *Staphylococcus epidermidis*

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

- Esp degrades specific proteins associated with *Staphylococcus aureus* biofilm formation and host-pathogen interaction. J Bacteriol. 195(8): 1645–1655, 2013 (査読有)
143. Vengadesan K, Macon K, Sugimoto S, Mizunoe Y, Iwase T, Narayana SV: Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the *Staphylococcus epidermidis* extracellular serine protease Esp. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 69(Pt 1): 49–52, 2013 (査読有)
144. *Islam MR, Nagao J, Zendo T, Sonomoto K: Antimicrobial mechanism of lantibiotics. Biochem Soc Trans. 40(6):1528–33, 2012 (査読有)
145. Iwatani S, Yoneyama F, Miyashita S, Zendo T, Nakayama J, Sonomoto K: Identification of the genes involved in the secretion and self-immunity of lacticin Q, an unmodified leaderless bacteriocin from *Lactococcus lactis* QU 5. Microbiology. 158(12):2927–35, 2012 (査読有)
146. *Himeno K, Fujita K, Zendo T, Wilaipun P, Ishibashi N, Masuda Y, Yoneyama F, Leelawatcharamas V, Nakayama J, Sonomoto K: Identification of enterocin NKR-5-3C, a novel class IIa bacteriocin produced by a multiple bacteriocin producer, *Enterococcus faecium* NKR-5-3. Biosci Biotechnol Biochem. 76(6):1245–7, 2012 (査読有)
147. Perez RH, Himeno K, Ishibashi N, Masuda Y, Zendo T, Fujita K, Wilaipun P, Leelawatcharamas V, Nakayama J, Sonomoto K: Monitoring of the multiple bacteriocin production by *Enterococcus faecium* NKR-5-3 through a developed liquid chromatography and mass spectrometry-based quantification system. J Biosci Bioeng. 114(5):490–6, 2012 (査読有)
148. Ishibashi N, Himeno K, Fujita K, Masuda Y, Perez RH, Zendo T, Wilaipun P, Leelawatcharamas V, Nakayama J, Sonomoto K: Purification and characterization of multiple bacteriocins and an inducing peptide produced by *Enterococcus faecium* NKR-5-3 from Thai fermented fish. Biosci Biotechnol Biochem. 76(5):947–53, 2012 (査読有)
149. Yokoyama K, Ohkido I, Iwamoto T, Ishida M, Urashima M, Hosoya T: Decrease of serum sphingosine-1-phosphate levels in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism treated with cinacalcet. Clin Nephrol. 78(1): 85–86, 2012 (査読有)
150. Gudlur S, Sukthankar P, Gao J, Avila LA, Hiromasa Y, Chen J, Iwamoto T, Tomich JM: Peptide nanovesicles formed by the self-assembly of branched amphiphilic peptides. PLoS One. 7(9): e45374, 2012 (査読有)
151. Fujioka K, Shirasu M, Manome Y, Ito N, Kakishima S, Minami T, Tominaga T, Shimozone F, Iwamoto T, Ikeda K, Yamamoto K, Murata J, Tomizawa Y: Objective Display and Discrimination of Floral Odors from *Amorphophallus titanum*, Bloomed on Different Dates and at Different Locations, Using an Electronic Nose. Sensors. 12(2): 2152–2161, 2012 (査読有)
152. Bukovnik U, Gao J, Cook GA, Shank LP, Seabra MB, Schultz BD, Iwamoto T, Chen J, Tomich JM: Structural and biophysical properties of a synthetic channel-forming peptide: designing a clinically relevant anion selective pore. Biochim Biophys Acta. 1818(4): 1039–1048, 2012 (査読有)
153. Mechkarska M, Meetani M, Michalak P, Vaksman Z, Takada K, Conlon JM: Hybridization between the African clawed frogs *Xenopus laevis* and *Xenopus muelleri* (Pipidae) increases the multiplicity of antimicrobial peptides in skin secretions of female offspring. Comp Biochem Physiol. Part D Genomics Proteomics. 7: 285–291, 2012 (査読有)
154. King JD, Mechkarska M, Coquet L, Leprince J, Jouenne T, Vaudry H, Takada K, Conlon JM: Host-defense peptides from skin secretions of the tetraploid frogs *Xenopus petersii* and *Xenopus pygmaeus*, and the octoploid frog *Xenopus lenduensis* (Pipidae). Peptides. 33: 35–43, 2012. (査読有)
155. Kadota T, Shimizu K, Tsurushige C, Kawaishi M, Araya J, Nakayama K, Kuwano K, Hano H: Organizing

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

pneumonia complicated by cyst and pneumothorax formation. Intern Med. 51(22): 3155-3158, 2012(査読有)

156. Fujii S, Hara H, Araya J, Takasaka N, Kojima J, Ito S, Minagawa S, Yumino Y, Ishikawa T, Numata T, Kawaishi M, Hirano J, Odaka M, Morikawa T, Nishimura SL, Nakayama K, Kuwano K: Insufficient autophagy promotes bronchial epithelial cell senescence in chronic obstructive pulmonary disease. Oncoimmunology. 1(5): 630-641, 2012(査読有)

157. Hara H, Araya J, Takasaka N, Fujii S, Kojima J, Yumino Y, Shimizu K, Ishikawa T, Numata T, Kawaishi M, Saito K, Hirano J, Odaka M, Morikawa T, Hano H, Nakayama K, Kuwano K: Involvement of Creatine Kinase B in Cigarette Smoke Induced-Bronchial Epithelial Cell Senescence. Am J Respir Cell Mol Biol. 46(3): 306-312, 2012(査読有)

158. 高坂直樹, 数寄泰介, 山川英晃, 内海裕文, 小島淳, 石川威夫. 原弘道, 沼田尊功, 河石真, 荒屋潤, 中山勝敏, 桑野和善: 迅速抗原検査陰性のパンデミック(H1N1)2009 重症肺炎の 1 例. 日本胸部臨床. 71: 812-817, 2012

159. Ogura M, Kagami S, Nakao M, Kono M, Kanetsuna Y, Hosoya T: Fungal granulomatous interstitial nephritis presenting as acute kidney injury diagnosed by renal histology including PCR assay. Clin Kidney J. 5(5): 459-462, 2012(査読有)

160. Kinouchi K, Morita K, Ko Y, Nagahori R, Shinohara G, Abe T, Hashimoto K: Reversal of oxidant-mediated biochemical injury and prompt functional recovery after prolonged single-dose crystalloid cardioplegic arrest in the infantile piglet heart by terminal warm-blood cardioplegia supplemented with phosphodiesterase III inhibitor. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 60: 73-81, 2012(査読有)

161. Kawada N, Sakamoto Y, Nagahori R, Yoshitake M, Naganuma H, Inoue T, Shinohara G, Hashimoto K: Technique of managing periprosthetic leakage due to mitral prosthetic valve endocarditis: report of a case. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 60: 837-839, 2012(査読有)

162. Maeda K, Kobayashi Y, Udagawa N, Uehara S, Ishihara A, Mizoguchi T, Kikuchi Y, Takada I, Kato S, Kani S, Nishita M, Marumo K, Martin TJ, Minami Y, Takahashi N: Wnt5a-Ror2 signaling between osteoblast-lineage cells and osteoclast precursors enhances osteoclastogenesis. Nat Med. 18: 405-412, 2012(査読有)

163. Tanaka T, Kitasato S, Chazono M, Kukagae Y, Iida T, Mitsuhashi M, Kakuta A, Marumo K: Use of an injectable complex of beta-tricalcium phosphate granules, hyakuronate, and FGF-2 on repair of unstable intertrochanteric fractures. The Open Biomedical Engineering Journal. 6: 98-103, 2012(査読有)

164. Chazono M, Soshi S, Inoue T, Nakamura Y, Kida Y, Hashimoto K, Shinohara A, Marumo K, Kono K, Suzuki N: Height velocity curves in female patients with idiopathic scoliosis. Studies in Health Technology and Informatics. 176: 202-205, 2012(査読有)

165. Chazono M, Tanaka T, Kumagae Y, Sai T, Marumo K: Ethnic differences in pedicle and bony spinal canal dimensions calculated from computed tomography of the cervical spine: a review of the English-language literature. European Spine Journal. 21(8): 1451-1458, 2012(査読有)

166. 水之江義充: バイオフィルムってなに? 小児内科. 44(7): 1198-1202, 2012

167. *Maruyama Y, Ebihara T, Nishiyama H, Suga M, Sato C: Immuno EM-OM correlative microscopy in solution by atmospheric scanning electron microscopy (ASEM). J Struct Biol. 180:259-70, 2012(査読有)

<図書>

1. 千葉明生, 杉本真也: 手洗いと表皮常在微生物. 食と微生物の事典. 朝倉書店. 印刷中

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

2. 米本圭吾, 杉本真也: 傷口の微生物. 食と微生物の事典. 朝倉書店. 印刷中
3. 吉井悠, 奥田賢一, 杉本真也: 鼻咽腔と咽頭の微生物. 食と微生物の事典. 朝倉書店. 印刷中
4. 荒川宜親, 神谷茂, 柳雄介(編集), 水之江義充(著): 3-1-4 細菌学各論 グラム陰性細菌 グラム陰性球菌および球桿菌. 病原微生物学 基礎と臨床 第1版. p.96-97, 総ページ数 p.294, 東京化学同人. 2014
5. 吉田眞一, 柳雄介, 吉開泰信(編集), 水之江義充(著): III. 細菌学各論 11. ビブリオ属とエロモナス属の細菌 A. ビブリオ属 1. コレラ菌, 2. 非 O1 コレラ菌. 戸田新細菌学 改訂 34 版. p.352-360, 総ページ数 p.1104, 南山堂. 2013
6. 水之江義充, 岩瀬忠行, 杉本真也, 奥田賢一, 千葉明生: II. 細菌感染症 1. グラム陽性球菌感染症 (1) ブドウ球菌感染症 2) コアグラウゼ陰性ブドウ球菌(MRCNS を含む)感染症. 感染症症候群(第 2 版)上. p.44-47, 総ページ数 p.816, 日本臨牀社. 2013
7. 研友企画出版(編集), 丸毛啓史(著): 変形性膝関節症 -人工膝関節全置換術-. 名医が語る最新・最良の治療 -変形性関節症(股関節・膝関節)-. p.174-191, 総ページ数 p.227, 法研. 2012
8. 日本外科感染症学会(編集), 矢永勝彦, 石田祐一(著): 第 1 章 総論 I. 院内感染症対策. 周術期感染管理テキスト. p.48-52, 総ページ数 p.240, 診断と治療社. 2012
9. 吉開泰信, 西山幸廣(監訳), 水之江義充(著): Part II. 臨床細菌学 Chapter14. おもな病原体の概要および嫌気性細菌の序論, Chapter 15. グラム陽性球菌, Chapter16. グラム陰性球菌(翻訳). レビンソン微生物学・免疫学[原書 11 版] (Review of Medical Microbiology and Immunology 11th edition Warren Levinson). p.97-119, 総ページ数 p.644, 丸善出版. 2012
10. Morrison IE, Dennison CL, Nishiyama H, Suga M, Sato C, Yarwood A, O'Toole PJ: Atmospheric Scanning Electron Microscope for Correlative Microscopy. Methods Cell Biol. 111:307-24. 2012

<学会発表>

<招待講演>

1. *杉本真也, 奥田賢一, 宮川玲奈, 佐藤真理, 千葉明生, 水之江義充, 佐藤主税: 大気圧走査電子顕微鏡によるバイオフィルムの液中高分解能観察. 第49回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会. 宮城県仙台市. 2016/1/29~30(招待講演)
2. 水之江義充, 奥田賢一, 岩瀬忠行, 千葉明生, 杉本真也: バイオフィルム感染症制圧の試み. 電子情報通信学会 有機エレクトロニクス研究会. 熊本県熊本市. 2016/1/8~9(招待講演)
3. 水之江義充: バイオフィルム感染症の予防・治療法の開発. バイオテクノロジー&エレクトロニクス研究討論会. 東京都墨田区. 2015/12/11
4. *奥田賢一: 抗バイオフィルム感染症薬の開発に向けた化合物スクリーニングと作用機序研究. 第4回創薬等支援技術基盤プラットフォーム公開シンポジウム(平成28年度). 東京都千代田区. 2016/12/7(口頭)
5. *Sugimoto S, Okuda K, Miyakawa R, Sato M, Chiba A, Muzunoe Y, Sato C: Imaging of bacterial biofilms in solution by atmospheric scanning electron microscopy. 日本顕微鏡学会第59回シンポジウム. 東京都豊島区 2016/11/19
6. *杉本真也: 蛍光プローブチオフラビン T による分子レベル・細胞レベルの RNA 代謝の高感度モニター. 環境バイオテクノロジー学会 2016 年度大会シンポジウム. 広島県広島市. 2016/6/13~14(シンポジウム)
7. *杉本真也: 8 型分泌装置の発動における細胞質分子シャペロンの機能. 第98回日本細菌学会関東支部

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

総会. 東京都千代田区. 2015/10/29～30(指名シンポジウム 若手中心による先端研究「運動・分泌マシナリーから見えるバクテリアの新しい世界」)

8. 水之江義充, 千葉明生, 岩瀬忠行, 杉本真也: 細菌のバイオフィルムマトリクスの解析. 2015 年度電子情報通信学会ソサイエティ大会-界面ナノバイオテクノロジーシンポジウム. 宮城県仙台市. 2015/9/8～11(依頼シンポジウム)
9. 水之江義充: バイオフィルムを標的にした感染症治療薬の探索. 第 88 回日本細菌学会総会. 岐阜県岐阜市. 2015/3/26～28
10. Sato C: Atmospheric scanning electron microscopy (ASEM) of axonal segmentation in neurons and phagocytosis of dendritic cells. 19th World Congress on Advances in Oncology and 17th International Symposium on Molecular Medicine. Athens, Greece. 2014/10/9～11
11. *Sugimoto S, Okuda K, Sato M, Sato C, Mizunoe Y: Fine structures of biofilms in solution visualized by atmospheric scanning electron microscopy. 19th World Congress on Advances in Oncology and 17th International Symposium on Molecular Medicine. Athens, Greece. 2014/10/9～11
12. *Okuda K, Sugimoto S, Iwase T, Tajima A, Yamada S, Mizunoe Y: Effects of bacteriocins on methicillin-resistant Staphylococcus aureus biofilm. 19th World Congress on Advances in Oncology and 17th International Symposium on Molecular Medicine. Athens, Greece. 2014/10/9～11
13. 水之江義充: バイオフィルム形成による治療抵抗性を示す感染症 (Device-related infection) とその克服. 医療薬学フォーラム 2014 第 22 回クリニカルファーマシーシンポジウム. 東京都江東区. 2014/6/28～29
14. 水之江義充: バイオフィルム感染症の予防・治療法の開発. 第 48 回緑膿菌感染症研究会. 長崎県長崎市. 2014/3/24～25
15. 水之江義充: 細菌の多細胞的振る舞い“バイオフィルム”の形成機構の解明と制圧に向けた試み(特別講演). 第 23 回日本病態生理学会. 東京都港区. 2013/8/2～4
16. *杉本真也: バクテリアの多細胞的形態“バイオフィルム”の液中高分解能観察. 山形大学理学部・テニユアトラック合同シンポジウム. 山形県山形市. 2013/7/31
17. 水之江義充: バイオフィルム感染症制圧の新たな試み. 第 27 回 Bacterial Adherence & Biofilm. 東京都文京区. 2013/7/12
18. 水之江義充: バイオフィルム感染症の制圧をめざして. 第 36 回日本骨・関節感染症学会. 神奈川県横浜市. 2013/7/5～6
19. *杉本真也, 奥田賢一, 佐藤主税, 水之江義充: MRSA のバイオフィルムマトリクスタンパク質の網羅的解析と時空間的動態. 第 95 回日本細菌学会関東支部総会. 東京都港区. 2012/10/10～12(シンポジウム)
20. 水之江義充: バイオフィルム研究の最新のアプローチ. 第 23 回尿路感染症研究会. 東京都港区. 2012/10/10
21. 水之江義充: 黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成メカニズムの解析. 第 79 回 日本細菌学会北海道支部学術総会. 北海道帯広市. 2012/8/28～29(特別講演)
22. 水之江義充: 黄色ブドウ球菌の定着とバイオフィルム形成. 第 3 回 MRSA フォーラム. 東京都新宿区. 2012/7/14(トピックレクチャー)

<その他>

23. *米本圭吾, 千葉明生, 杉本真也, 斎藤充, 丸毛啓史, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌における Eap と細胞壁アンカータンパク質の相補的な機能. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市. 2017/3/19～21

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

(ワークショップ&ポスター)

24. 田嶋亜紀子, 水之江義充: ヌクレアーゼによる黄色ブドウ球菌バイオフィーム dispersal. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市. 2017/3/19~21(ポスター)
25. *千葉明生, 宮川玲奈, 杉本真也, 米本圭吾, 水之江義充: MRSA 臨床分離株のバイオフィーム形成能とマトリクス成分の解析. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市. 2017/3/19~21(ポスター)
26. *奥田賢一, 山田聡美, 梶山茉莉, 吉井悠, 長野哲雄, 岡部隆義, 小島宏建, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌バイオフィーム形成阻害物質のスクリーニングと活性評価. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市. 2017/3/19~21(ポスター)
27. *吉井悠, 奥田賢一, 山田聡美, 永倉茉莉, 杉本真也, 長野哲雄, 岡部隆義, 小島宏建, 岩本武夫, 水之江義充: 低分子化合物 ABC-JK2 は黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成を阻害し, β -ラクタム系抗菌薬に対する感受性を上昇させる. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市. 2017/3/19~21(ポスター)
28. 岩瀬忠行, 岡井智瑛, 田嶋亜紀子, 水之江義充: 腸管出血性大腸菌 Sakai 株のゲノムに存在する機能未知遺伝子の酸化ストレス耐性に与える影響の解析. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市. 2017/3/19~21(ポスター)
29. *Chiba A, Sugimoto S, Yonemoto K, Mizunoe Y: Characterization of extracellular nucleic acids in bacterial biofilms. Advanced Genome Science International Symposium "The Start New Genomic". 東京都文京区. 2017/1/10~11
30. *水之江義充, 杉本真也, 奥田賢一: バイオフィーム感染症制圧に向けての展望. 第 6 回家畜感染症学会学術集会. 福岡県福岡市. 2016/12/2~3(口頭・教育講演)
31. *杉本真也, 宮川玲奈, 寺尾明莉, 有田健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: 細胞外アミロイド線維形成タンパク質の細胞内品質管理機構. 第 39 回日本分子生物学会年会. 神奈川県横浜市. 2016/11/30~12/2(ポスター・一般) ポスター賞受賞
32. *千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular RNA はバイオフィームの構造維持に重要である. 第 39 回日本分子生物学会年会. 神奈川県横浜市. 2016/11/30~12/2(ポスター・一般)ポスター賞受賞
33. *米本圭吾, 宮川玲奈, 杉本真也, 佐藤文哉, 千葉明生, 斎藤充, 丸毛啓史, 水之江義充: MRSA 臨床分離株のバイオフィーム形成能とマトリクス成分の解析. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会. 福岡県福岡市. 2016/10/13~14(ポスター・一般)
34. *杉本真也, 千葉明生, 水之江義充: Light-up 型蛍光プローブを用いて遺伝子発現の揺らぎを瞬時に可視化する. 第 133 回成医会総会. 東京都港区. 2016/10/6~7(ポスター・一般) ポスター賞受賞
35. 西岡彩子, 岩瀬忠行, 水之江義充: 腸管出血性大腸菌 O157 において見出された新規一塩基変異による σ 因子の機能不全. 第 133 回成医会総会. 東京都港区. 2016/10/6~7(ポスター・一般)
36. *吉井悠, 奥田賢一, 山田聡美, 永倉茉莉, 杉本真也, 長野哲雄, 岡部隆義, 小島宏建, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌のバイオフィームの形成を阻害する低分子化合物の作用機序解析. 第 30 回日本バイオフィーム学会. 東京都中央区. 2016/7/2(口頭・一般)
37. *米本圭吾, 千葉明生, 杉本真也, 斎藤充, 丸毛啓史, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成における分泌タンパク質と細胞壁アンカータンパク質の相補的な機能の解明. 第 30 回日本バイオフィーム学会. 東京都中央区. 2016/7/2
38. *杉本真也, 有田健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: 分子シャペロン DnaK によるバイオフィームの形成制御メカニズム. 第 1 回バイオフィーム研究者若手ワークショップ. 東京都新宿区. 2016/7/1 (ポスター・一般)

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

39. *千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular small RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である。第 1 回バイオフィルム研究者若手ワークショップ。東京都新宿区。2016/7/1 (ポスター・一般)
40. *吉井悠, 奥田賢一: Identification of ABC-JK2m a small molecule inhibitor of Staphylococcal Biofilm formation. 第 1 回バイオフィルム研究者若手ワークショップ。東京都新宿区。2016/7/1 (ポスター・一般)
41. *Yoshii Y, Okuda K, Yamada S, Nagakura M, Sugimoto S, Nagano T, Okabe T, Kojima H, Mizunoe Y: Identification of ABC-JK2m a small molecule inhibitor of Staphylococcal biofilm formation. Biofilms7. Porto, Portugal. 2016/6/26~28 (ポスター・一般)
42. *Chiba A, Yonemoto K, Sugimoto S, Mizunoe Y: Extracellular rna serves as a building material in bacterial habitats. 2016 ASM Microbe. Boston, USA. 2016/6/16~20(口頭・シンポジウム)
43. Sugimoto S, Okuda K, Miyakawa R, Sato M, Chiba A, Sato C, Mizunoe Y: High resolution imaging of aqueous biofilms by atmospheric scanning electron microscopy. 2016 ASM Microbe. Boston, USA. 2016/6/16~20(口頭・シンポジウム)
44. *Yoshii Y, Okuda K, Yamada S, Nagakura M, Sugimoto S, Nagano T, Okabe T, Kojima H, Mizunoe Y: Identification of ABC-JK2, a Small Molecule Inhibitor of Staphylococcal Biofilm Formation. 2016 ASM Microbe. Boston, USA. 2016/6/16~20(ポスター)
45. *Okuda K, Yamada S, Sugimoto S, Iwase T, Sato M, Sato C, Mizunoe Y: Genotypic and biofilm profiles of *Propionibacterium acnes* isolated from pacemakers without clinical signs of infection. 2016 ASM Microbe. Boston, USA. 2016/6/16~20(ポスター)
46. *杉本真也, 有田-森岡健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: 分子シャペロン DnaK によるバイオフィルムの形成制御メカニズム。第 13 回 21 世紀大腸菌研究会。熊本県阿蘇郡。2016/6/2~3
47. *有田-森岡健一, 山中邦俊, 水之江義充, 小椋光, 杉本真也: Myricetin 類縁体を用いた慢性細菌感染症の制御戦略。第 13 回 21 世紀大腸菌研究会。熊本県阿蘇郡。2016/6/2~3
48. *吉井悠, 奥田賢一, 山田聡美, 永倉茉莉, 杉本真也, 長野哲雄, 岡部隆義, 小島宏建, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌のバイオフィルムの形成を阻害する低分子化合物の作用機序解析。第 89 回日本細菌学会総会。大阪府大阪市。2016/3/23~25(ポスター)
49. *吉井悠, 奥田賢一, 山田聡美, 永倉茉莉, 杉本真也, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌のバイオフィルムの形成を阻害する低分子化合物の作用機序解析。第 89 回日本細菌学会総会。大阪府大阪市。2016/3/23~25(ポスター)
50. *杉本真也, 奥田賢一, 宮川玲奈, 佐藤真理, 千葉明生, 佐藤主税, 水之江義充: 高分解能液中電顕観察から見えてきたバイオフィルム内部におけるメンブランベシクルの産生と多彩な機能。第 89 回日本細菌学会総会。大阪府大阪市。2016/3/23~25(ワークショップ・口頭)
51. *奥田賢一, 山田聡美, 杉本真也, 岩瀬忠行, 佐藤真理, 佐藤主税, 水之江義充: ペースメーカーより分離された *Propionibacterium acnes* の分子系統解析とバイオフィルム形成。第 89 回日本細菌学会総会。大阪府大阪市。2016/3/23~25(ポスター)
52. 岩瀬忠行, 田嶋亜紀子, 水之江義充: 腸管出血性大腸菌 O157 の臨床分離株で見出された一塩基変異による RpoS の機能不全。第 89 回日本細菌学会総会。大阪府大阪市。2016/3/23~25(ポスター)
53. *杉本真也, 有田(森岡)健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: 細胞外アミロイド産生におけるコシャペロン非依存的な分子シャペロン DnaK の機能。第 38 回日本分子生物学会年会。兵庫県神戸市。2015/12/1~4(ポスター)
54. *千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である。第 9

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

回日本細菌学会若手コロッセウム. 鹿児島県鹿児島市. 2015/11/23~25(口頭)

55. *Chiba A, Sugimoto S, Sato F, Hori S, Mizunoe Y: A refined technique for extraction of extracellular matrices from bacterial biofilms and its applicability. Microbial Stress: From Molecule to Systems. Sitges, Spain. 2015/11/12~15 (Oral)
56. *Arita-Morioka K, Yamanaka K, Mizunoe Y, Ogura T, Sugimoto S: Inhibition of bacterial biofilms by small compounds targeting molecular chaperone DnaK. Microbial Stress: From Molecule to Systems. Sitges, Spain. 2015/11/12~15 (Oral)
57. *千葉明生, 杉本真也, 佐藤文哉, 堀誠治, 水之江義充: 迅速な非侵襲的バイオフィルム ECM 抽出法の開発. 第 98 回日本細菌学会関東支部総会. 東京都千代田区. 2015/10/29~30(口頭)
58. *千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular small RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である. 第 132 回成医会. 東京都港区. 2015/10/8~9(ポスター・一般)優秀ポスター発表賞
59. *杉本真也, 千葉明生, 米本圭吾, 水之江義充: バイオフィルムマトリクスに含まれる細胞外核酸の実態解明. 新学術領域研究「ゲノム支援」拡大班会議. 京都府京都市. 2015/8/27~28(ポスター)
60. *千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である. 日本バイオフィルム学会. 愛知県蒲郡市. 2015/7/10~11(口頭・一般)
61. *奥田賢一, 杉本真也, 岩瀬忠行, 山田聡美, 水之江義充: ペースメーカーより分離された *Propionibacterium acnes* によるバイオフィルム形成. 日本バイオフィルム学会. 愛知県蒲郡市. 2015/7/10~11
62. *杉本真也, 有田(森岡)健一, 水之江義充, 山中邦俊, 小椋光: 蛍光プローブチオフラビン T による分子レベル・細胞レベルの RNA 代謝の高感度モニター. 日本バイオフィルム学会. 愛知県蒲郡市. 2015/7/10~11(口頭・一般)
63. *杉本真也, 有田健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: DnaK/Hsp70 シャペロンシステムは VIII 型分泌装置の発現と品質を制御する. 第 12 回 21 世紀大腸菌研究会. 滋賀県大津市. 2015/6/4~5(口頭&ポスター)
64. *有田健一, 山中邦俊, 水之江義充, 小椋光, 杉本真也: 分子シャペロン DnaK をターゲットにした小分子化合物を用いた新規バイオフィルム阻害法の開発. 第 12 回 21 世紀大腸菌研究会. 滋賀県大津市. 2015/6/4~5(ポスター)ポスター発表賞
65. *杉本真也, 有田健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: DnaK/Hsp70 シャペロンシステムは 8 型分泌装置の発現と品質を制御する. 第 88 回日本細菌学会総会. 岐阜県岐阜市. 2015/3/26~28(ワークショップ)
66. *千葉明生, 杉本真也, 水之江 義充: Extracellular small RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である. 第 88 回日本細菌学会総会. 岐阜県岐阜市. 2015/3/26~28(ポスター)
67. *千葉明生, 杉本真也, 佐藤文哉, 堀誠治, 水之江義充: 迅速な非侵襲的バイオフィルムマトリクス抽出法の開発. 第 37 回日本分子生物学会年回. 神奈川県横浜市. 2014/11/25~27(ポスター)
68. *杉本真也, 有田(森岡)健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: 分子シャペロン DnaK はタンパク質のフォールディングと局在化を介してバイオフィルム形成を制御する. 第 37 回日本分子生物学会年回. 神奈川県横浜市. 2014/11/25~27(ポスター)
69. *有田(森岡)健一, 山中邦俊, 水之江義充, 小椋光, 杉本真也: 分子シャペロン DnaK を標的とする低分子化合物を用いた新たなバイオフィルム阻害法の開発. 分子第 37 回日本分子生物学会年回. 神奈川県横浜市. 2014/11/25~27(ポスター)

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

70. *奥田賢一, 杉本真也, 岩瀬忠行, 田嶋亜紀子, 水之江義充: Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. 第 87 回日本細菌学会. 東京都江戸川区. 2014/3/26～28(ポスター)
71. *千葉明生, 佐藤文哉, 水之江義充, 杉本真也: 迅速な非侵襲的バイオフィルムマトリクス抽出法の開発. 第 87 回日本細菌学会. 東京都江戸川区. 2014/3/26～28(ポスター)
72. *杉本真也, 奥田賢一, 千葉明生, 佐藤主税, 水之江義充: 大気圧走査電子顕微鏡によるバクテリアの多細胞的形態“バイオフィルム”の液中高分解能観察. 第 36 回日本分子生物学会. 兵庫県神戸市. 2013/12/3～6(ポスター)
73. *Sugimoto S, Mizunoe Y: Excreted AAA+ chaperone ClpB stimulates bacterial biofilm formation. 10th International Conference on AAA+ Proteins. EMBO Workshop on AAA+ proteins: From mechanisms and disease to targets. Neuss, Germany. 2013/9/15～19(Poster)
74. *Sugimoto S, Iwamoto T, Takada K, Okuda K, Tajima A, Iwase T, Chiba A, Mizunoe Y: *Staphylococcus epidermidis* Esp degrades specific proteins associated with *Staphylococcus aureus* biofilm formation and host-pathogen interaction. FEMS 2013: 5th congress of European microbiologists. Leipzig, Germany. 2013/7/21～25(Poster)
75. *奥田賢一, 杉本真也, 岩瀬忠行, 田嶋亜紀子, 水之江義充: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌バイオフィルムに対するバクテリオシンの殺菌効果. 第 27 回 Bacterial Adherence & Biofilm. 東京都文京区. 2013/7/12(口頭)
76. *小山亮太, 松下和彦, 別府諸兄, 奥田賢一, 水之江義充: オゾン水の整形外科領域への応用—殺菌力の検討—. 第 36 回日本骨・関節感染症学会. 神奈川県横浜市. 2013/7/5～6(口頭)
77. Hironaka I, Iwase T, Sugimoto S, Okuda K, Tajima A, Yanaga K, Mizunoe Y: Bacterial ATP secretion. Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology. Bremen, Germany. 2013/3/10～13(Poster)
78. 弘中一平, 岩瀬忠行, 杉本真也, 奥田賢一, 田嶋亜紀子, 水之江義充: 細菌による ATP 分泌機構の解析. 第 86 回日本細菌学会総会. 千葉県千葉市. 2013/3/18～20(ワークショップ)
79. 水之江義充, 岩瀬忠行: 細菌間干渉・細菌宿主相互作用: 常在菌による黄色ブドウ球菌の排除. 第 86 回日本細菌学会総会. 千葉県千葉市. 2013/3/18～20(ワークショップ)
80. *奥田賢一, 善藤威史, 田嶋亜紀子, 岩瀬忠行, 杉本真也, 弘中一平, 千葉明生, 園元謙二, 水之江義充: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌バイオフィルムに対するバクテリオシンの殺菌効果. 第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡県福岡市. 2012/12/11～14(ポスター)
81. *杉本真也, 奥田賢一, 田嶋亜紀子, 岩瀬忠行, 水之江義充: 細胞外に排出された細胞質分子シャペロンによるバイオフィルム形成制御メカニズム Control of biofilm formation by excreted molecular chaperones. 第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡県福岡市. 2012/12/11～14(ポスター)
82. *Sugimoto S, Okuda K, Tajima A, Iwase T, Mizunoe Y: Quality control of staphylococcal biofilms by excreted molecular chaperones DnaK and ClpB. EMBO/EMBL Symposium, Quality Control ~From Molecules to Organelles. Heidelberg, Germany. 2012/9/19～22(Poster)

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

<既に実施しているもの>

・国内シンポジウム・ワークショップ

1. シンポジウム「細菌の集団形成とその制御機構の新展開」

演者: 杉本真也, 千葉明生, 宮川玲奈, 寺尾明莉, 米本圭吾, 水之江義充: バイオフィルムマトリクス成分の新機能. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市. 2017/3/19~21

2. * 第 1 回 バイオフィルム研究者若手ワークショップ

演者: 奥田賢一: ケミカルバイオロジーによるバイオフィルム形成機構の解明と抗バイオフィルム感染症薬開発に向けた試み. 東京都新宿区 2016/7/1

・国際シンポジウム・ワークショップ

1. Pasteur-Jikei Joint Symposium. Paris, France. 2017/4/24

Sperkers: Mizunoe Y, Tajima A, Iwase T, Sugimoto S, Okuda K, Yoshii Y.

2. Jikei - Umeå Joint conference. Umeå, Sweden. 2013/3/7~8

Speakers: Hironaka I, Iwase T, Sugimoto S, Okuda K, Tajima A, Yanaga K, Mizunoe Y: Bacterial ATP secretion.

・インターネット公開状況

東京慈恵会医科大学 バイオフィルム研究センター ホームページ
(http://www.jikei.ac.jp/academic/course/77_biofilm.html)

・新聞報道

「バクテリアの集合体に含まれる微細な構造を解明する新しい顕微鏡観察法の開発」
日刊工業新聞 2016 年 5 月 20 日

<これから実施する予定のもの>

予定なし

14 その他の研究成果等

<受賞歴>

1. 杉本真也, 宮川玲奈, 寺尾明莉, 有田健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: 細胞外アミロイド線維形成タンパク質の細胞内品質管理機構. 第 39 回日本分子生物学会年会. 神奈川県横浜市. 2016/11/30~12/2、ポスター賞受賞
2. 千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である. 第 39 回日本分子生物学会年会. 神奈川県横浜市 2016/11/30~12/2、ポスター賞受賞
3. 杉本真也, 千葉明生, 水之江義充: Light-up 型蛍光プローブを用いて遺伝子発現の揺らぎを瞬時に可視化する. 第 133 回成医会総会. 東京都港区. 2016/10/6~7、ポスター賞受賞
4. Yoshii Y, Okuda K, Yamada S, Nagakura M, Sugimoto S, Nagano T, Okabe T, Kojima H, Mizunoe Y: Identification of ABC-JK2, a Small Molecule Inhibitor of Staphylococcal Biofilm Formation. 2016 ASM Microbe. Boston, USA. 2016/6/16~20(ポスター) Outstanding Student Abstract
5. 千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular small RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である. 第 132 回成医会. 東京都港区. 2015/10/8~9、優秀ポスター発表賞
6. 有田健一, 山中邦俊, 水之江義充, 小椋光, 杉本真也: 分子シャペロン DnaK をターゲットにした小分子化合物を用いた新規バイオフィルム阻害法の開発. 第 12 回 21 世紀大腸菌研究会. 滋賀県大津市. 2015/6/4~5、ポスター発表賞

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

該当なし

<「選定時」に付された留意事項への対応>

該当なし

<「中間評価時」に付された留意事項>

評価者1

1 研究組織について

バイオフィルム感染症研究のために、実際にその制圧が必要な臨床研究室を組織し、東京大学や九州大学農学研究院との共同研究により成果を挙げており、ユニークな研究拠点となった。

2 研究施設・設備等について

施設備品は整っている。

3 研究プロジェクトの進捗状況・研究成果等について

バイオフィルムの単離製法を確立し、創薬のリード化合物を検討した。さらにバクテリオシンの殺菌作用を発見する等、計画以上の進展である。論文発表も順調に進んでいる。

4 その他(選定時「留意事項」への対応状況等)

コメントなし。

評価者2

1 研究組織について

研究代表者の下に明確な役割分担・責任体制が構築されており、連携促進室を設置して基礎部門と臨床部門との連携促進に努めている。また、内部及び外部委員を委嘱し、事業の進捗状況を客観的に評価している。しかしながら、第一回中間評価委員会において各委員が指摘しているように、学内外との共同研究、研究者間の緊密な連携、若手研究者の育成、小セミナーの積極的な開催、海外研究所の招聘等にさらに努力する必要がある。

2 研究施設・設備等について

研究施設・設備の稼働状況は妥当である。

3 研究プロジェクトの進捗状況・研究成果等について

- ・「世界のバイオフィルム研究をリードする体系的な研究基盤拠点」を形成するのであれば、より積極的に国際学会で発表することが必要ではないか。外国での発表がドイツのみに限られている。
- ・「臨床におけるバイオフィルムの解析に基づいた治療法・予防法の考案」研究グループは、研究の進捗が遅れており、成果に乏しい。発表論文も、査読がない総説・解説である。

4 その他(選定時「留意事項」への対応状況等)

研究期間終了時まで、特許申請など、具体的な研究成果を挙げることを求めたい。

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

法人番号	131022
プロジェクト番号	S1201002

1 研究組織について

学内外との共同研究、研究者間の緊密な連携促進については、プロジェクト開始時からの学外共同研究機関である九州大学農学研究院と産業技術総合研究所に加え、熊本大学熊本大学発生医学研究所との共同研究を行い、成果を発表した。学内での小セミナーを開催するとともに、日本細菌学会と連携しインターラボセミナー(2014年1月25日、於:東京大学大学院薬学研究科、2014年11月26日、於:学習院大学理学部)を開催したほか、日本バイオフィルム学会と連携して第1回バイオフィルム研究者若手ワークショップ(2016年7月1日於:早稲田大学先端生命医科学センター)を開催した。臨床部門の様々な科との連携を積極的に深めるため、2015年度より呼吸器内科がプロジェクトに参加した。2015年度より整形外科から大学院生が細菌学講座に派遣され、研究を行っている。基礎と臨床の緊密な連携によって臨床症状に基づいた細菌叢データの解釈が可能となった。

大学院生・若手研究者の育成に関しては、本プロジェクトの研究で2015年度に1名が博士号を取得し、2016年度より細菌学講座で助教として研究に取り組んでいる。現在は2名の学生が博士課程に在籍している。1名が2017年度より日本学術振興会特別研究員(DC2)に採択された。また、コネチカット州グリニッジ高校よりTakema Kajita氏を訪問研究者として受け入れ、研究指導を行った(2015年7月)。その他にも、学部学生数名を受入れ、研究指導を行っている。若手研究者を対象とした競争的資金の獲得にも積極的に取り組み、科研費若手研究(A)、若手研究(B)をはじめ、各種財団の研究奨励費(私学助成奨励費、東京生化学財団、上原記念財団など)に採択された。

海外研究者の招聘については、Université Pierre et Marie Curie(フランス)よりDr. LOPES Anne-Aurelieを訪問研究者として受け入れた(2016年1月~6月)。また、国際研究交流を促進する観点から、パスツール研究所(フランス)と「パスツール・慈恵 合同シンポジウム」を開催した(2017年4月24日)。

2 研究施設・設備等について

留意事項なし

3 研究プロジェクトの進捗状況・研究成果等について

- ・国際学会での発表をより積極的に行った。

2012年度:ドイツ(1演題)、2013年度:ドイツ(3演題)、2014年度:ギリシャ(3演題、全て招待講演)、2015年度:スペイン(2演題、全て口頭発表に選抜)、2016年度:アメリカ(4演題、2講演はシンポジウムでの講演に選抜)、ポルトガル(1演題)、日本(1演題)

- ・「臨床におけるバイオフィルムの解析に基づいた治療法・予防法の考案」研究グループは、臨床検体に付着した細菌DNAがごく微量であったため、解析法の確立が難航した。最終年度にブレークスルーがあり、信頼度の高い手法を確立することができた。現在、基礎と臨床が連携して臨床データの解析を行うなど論文発表に向けた準備を進めている。

4 その他(選定時「留意事項」への対応状況等)

バイオフィルム阻害化合物についてはこれまでに海外のグループによって報告されている化合物よりも優れた活性を示すものを見出すことができおり、特許申請に向けて準備中である。また、国内製薬企業とMTAおよび秘密保持契約を締結し、共同研究に向けた協議が現在進行中であり、成果の実用化を目指している。

法人番号	131022
プロジェクト番号	S121002

年度・区分	支出額	内 訳						備 考
		法 人 負 担	私 学 助 成	共同研 究機関 負担	受託 研究等	寄付金	その他()	
平成 24 年度	施 設	0						
	装 置	41,904	20,953	20,951				
	設 備	7,350	2,450	4,900				
	研究費	30,450	15,482	14,968				
平成 25 年度	施 設	0						
	装 置	47,783	23,892	23,891				
	設 備	0						
	研究費	32,000	17,318	14,682				
平成 26 年度	施 設	0						
	装 置	43,837	21,892	21,945				
	設 備	5,670	1,890	3,780				
	研究費	30,050	15,050	15,000				
平成 27 年度	施 設	0						
	装 置	0						
	設 備	0						
	研究費	70,000	35,000	35,000				
平成 28 年度	施 設	0						
	装 置	0						
	設 備	0						
	研究費	70,000	35,000	35,000				
総 額	施 設	0	0	0	0	0	0	0
	装 置	133,524	66,737	66,787	0	0	0	0
	設 備	13,020	4,340	8,680	0	0	0	0
	研究費	232,500	117,850	114,650	0	0	0	0
総 計	379,044	188,927	190,117	0	0	0	0	

法人番号

131022

17

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
大学一号館基礎医学講座(細菌学講座)	既存	40 m ²	1	12	0	0	
大学一号館総合医科学研究センター(共用研究施設)	既存	40 m ²	1	122	0	0	

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

m²

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型番	台数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)							
タンパク質精製システム	24年度	AKTA Purifier10 PLUS	1	2100 h	7,350	4,900	私学助成
卓上型超遠心機	26年度	Optima MAX-XP-TLA-110 (8x5.1ml)	1	300 h	5,670	3,780	私学助成
				h			
				h			
(研究設備)							
バイオフィーム形成阻害試験自動化システム	24年度	Freedom EVO150	1	9000 h	41,904	20,951	私学助成
大気圧走査電子顕微鏡	25年度	JASM-6200 Clair Scope	1	600 h	47,783	23,892	私学助成
表面プラズモン共鳴装置	26年度	Biacore T200	1	1200 h	43,837	21,945	私学助成
				h			
(情報処理関係設備)							
				h			
				h			
				h			
				h			

18 研究費の支出状況

(千円)

年 度	平成 24 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	17,936	試薬・抗体・実験器具等	
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	290	化合物サンプルプレート輸送料	
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費	167	九州大学出張	
報 酬 ・ 委 託 料	85	DNA シーケンス解析他	
(修 理 費)	294	安全キャビネット整備	
計	18,772		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼 務 職 員)			時給 ○○円、年間時間数 ○○時間 実人数 ○○人
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	0		
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	11,678	研究用機器購入	クロマトチャンバー・高圧蒸気滅菌器・バイオディカルフリーザー・薬用冷蔵ショーケース・超音波ホモジナイザー他
図 書			
計	11,678		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			学内○人、学外○人、外国○人
ポスト・ドクター			学内○人、学外○人、外国○人、学振○人
研究支援推進経費			学内○人、学外○人、外国○人
計	0		学内○人、学外○人、外国○人、学振○人

法人番号

131022

(千円)

年 度	平成 25 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	17,374	試薬・抗体・実験器具等	
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	993	化合物サンプルプレート輸送料	
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費			
報 酬 ・ 委 託 料	2,170	DNA シーケンス解析他	
(修理費)	320	バイオフィルム形成阻害自動化システム修理費	
委 託 料 (人 材 派 遣 費)	4,346	研究補助員派遣費	研究補助業務(細菌培養、遺伝子操作、生化学実験、器具洗浄、試薬調製)、他
計	25,203		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)			
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	0		
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	6,797	研究用機器購入	遠心濃縮システム一式・超低温フリーザー・紫外可視分光光度計・マイクロプレートウォッシャー・ハイドロプレス他
図 書			
計	6,797		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	0		

(千円)

年 度	平成 26 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	14,739	試薬・抗体・実験器具等	
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費			
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費			
報 酬 ・ 委 託 料	4,418	DNA シーケンス解析他	
委 託 料 (人 材 派 遣 費)	5,283	研究補助員派遣費	研究補助業務(細菌培養、遺伝子操作、生化学実験、器具洗浄、試薬調製)、他
計	24,440		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)			
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	0		
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	6,000	研究用機器購入	ゲル撮影装置Fas-Digi、特注サイド実験台
図 書			
計	6,000		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	0		

年 度		平成 27 年度		法人番号	131022
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳			
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容	
教 育 研 究 経 費 支 出					
消 耗 品 費	28,221	試薬・抗体・実験器具等			
光 熱 水 費					
通 信 運 搬 費					
印 刷 製 本 費					
旅 費 交 通 費					
報 酬 ・ 委 託 料	6,747	DNA シーケンス解析他			
委 託 料 (人 材 派 遣 費)	17,555	研究補助員派遣費			研究補助業務(細菌培養、遺伝子操作、生化学実験、器具洗浄、試薬調製)、他
計	52,523				
ア ル バ イ ト 関 係 支 出					
人 件 費 支 出 (兼 務 職 員)					
教 育 研 究 経 費 支 出					
計	0				
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)					
教 育 研 究 用 機 器 備 品	17,477	研究用機器購入			顕微鏡動画撮影ユニット、フレンチ式高圧ホモジナイザー、微量高速冷却遠心機、デジタルカメラ、落射光源一式、他
図 書					
計	17,477				
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出					
リサーチ・アシスタント					
ポスト・ドクター					
研究支援推進経費					
計	0				

年 度		平成 28 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳			
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容	
教 育 研 究 経 費 支 出					
消 耗 品 費	33,761	試薬・抗体・実験器具等			
光 熱 水 費					
通 信 運 搬 費					
印 刷 製 本 費					
旅 費 交 通 費	773	ASM・バイオフィラム学会・日本整形外科学会			
報 酬 ・ 委 託 料	12,156	DNA シーケンス解析他			
委 託 料 (人 材 派 遣 費)	17,896	研究補助員派遣費			研究補助業務(細菌培養、遺伝子操作、生化学実験、器具洗浄、試薬調製)、他
計	64,586				
ア ル バ イ ト 関 係 支 出					
人 件 費 支 出 (兼 務 職 員)					
教 育 研 究 経 費 支 出					
計	0				
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)					
教 育 研 究 用 機 器 備 品	5,414	研究用機器購入			オートクレーブ、フローサイトメーター
図 書					
計	5,414				
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出					
リサーチ・アシスタント					
ポスト・ドクター					
研究支援推進経費					
計	0				