

様式6（第15条第1項関係）（採択年度＝平成26年度以降）

2016年4月5日

独立行政法人
日本学術振興会理事長 殿

研究機関の設置者の所在地	〒870-1192 大分県大分市大字旦野原700番地	
研究機関の設置者の名称	国立大学法人 大分大学	
代表者の職名・氏名	学 長 北 野 正 剛 (記名押印)	
代表研究機関名 及び機関コード	大分大学	17501

平成27年度戦略的国際研究交流推進事業費補助金
実績報告書

戦略的国際研究交流推進事業費補助金取扱要領第15条第1項の規定により、実績報告書を提出します。

整理番号	S2607	補助事業の 完了日	平成28年3月31日	関連研究分野 (分科細目コード)	消化器内科学 8202
補助事業名（採択年度） 世界最高峰のヘリコバクター・ピロリ研究を目指す消化器病研究拠点形成（平成26年度）				補助金支出額（別紙のとおり） 40,540,000 円	

代表研究機関以外の協力機関
なし

海外の連携機関
ベイラー医科大学 (Baylor College of Medicine)

1. 事業実施主体

フリガナ 担当研究者氏名	所属機関	所属部局	職名	専門分野
主担当研究者 ヤマオカ ヨシオ 山岡 吉生	大分大学	医学部	教授	消化器感染症 ・予防医学
担当研究者 ムラカミ カズナリ 村上 和成	大分大学	医学部	教授	消化器内科学
モリヤマ マサツグ 守山 正胤	大分大学	医学部	医学部長・教授	分子病理学
ニシノノ アキラ 西園 晃	大分大学	医学部	教授	微生物学
コバヤシ タカシ 小林 隆志	大分大学	医学部	教授	感染予防医学 ・免疫学
ハマダ フミヒコ 濱田 文彦	大分大学	医学部	教授	生体構造医学
スズキ ルミコ 鈴木 留美子	大分大学	医学部	助教	バイオインフ ォーマティク ス
計7名				

フリガナ 連絡担当者	所属部局・職名	連絡先（電話番号、e-mailアドレス）
---------------	---------	----------------------

ヒロタ ユミコ 廣田 友美子	研究・社会連携部国際交流課 国際教育・交流係長	TEL:097-554-7429 E-mail:tankoury@oita-u.ac.jp
-------------------	----------------------------	--

2. 本年度の実績概要

ヘリコバクター・ピロリ（ピロリ菌）は全人類の約半数が感染して、消化器疾患をはじめとした多彩な疾患を引き起こす世界最大の感染症の一つである。本事業では、若手研究者をベイラー医科大学に派遣し、1) ピロリ菌の病原因子の解明、2) ヒトの疾患感受性因子の解明、3) ピロリ菌とヒトの相互作用と共進化の理解、4) 疫学的視点をもった医学研究者の育成を目的とする研究拠点形成を到達目標とした事業であり、将来的には、強力な国際共同研究ネットワークを構築し、大分大学が世界一のピロリ菌研究拠点となることを目指すものである。

平成 27 年度は、派遣者②（魚谷）、派遣者③（田中）の 2 名をベイラー医科大学に派遣した。中でも、魚谷は、主要連携研究者である Estes 教授の教室で樹立された十二指腸粘膜由来 Organoid システムを用いて、3 次元および 2 次元展開培養法を確立した。さらに、本年度の目標であった胃由来 Organoid 作成にも成功することができた。胃由来 Organoid は、従来の十二指腸粘膜由来 Organoid と比較し、増殖能が低いことが欠点であったが、本年度、培地組成や培養条件について詳細に評価することでこれらの点を改善することができ、安定的な培養が可能となった。また、これら Organoid システムを用いてピロリ菌感染実験時の組織形態学的な変化を免疫染色法により評価した。胃由来 Organoid では、感染後に粘膜組織の空胞化現象が顕著に観察されるなど、研究ツールとして非常に有用であることが実証できた。現在、胃由来 Organoid おけるピロリ菌感染時のサイトカイン産生の変化について評価する為、より詳細な条件検討を行っている。さらに、CagA, cag pathogenicity island, VacA, OipA の変異株を用いて、感染実験を進める予定である。以上、彼は主に、目的 1) ピロリ菌の病原因子の解明、2) ヒトの疾患感受性因子の解明を中心に研究を進めており、当初の予定どおり計画が遂行できている。

一方、田中は、主要連携研究者である Graham 教授の研究室にて、大分大学がアジア各国との共同研究で得られた胃粘膜検体を用いて RNA マイクロアレイを実施し、GO 解析および Pathway 解析を行った。その結果、オートファジーに関与する因子がピロリ菌感染胃粘膜で優位に上昇していることを発見し、平成 27 年 5 月にワシントン DC で開かれたアメリカ消化器病週間（世界最大の消化器病学会）で発表した。この結果に加え、さらに *In vitro* におけるオートファジー関連因子について検討し、胃粘膜下 IL-17c の有意な発現上昇を確認し、現在論文を執筆中である。さらに、大分大学の山岡の講座と連携し、次世代シーケンスにより解読されたピロリ菌臨床分離株のゲノム配列から病原因子となる候補遺伝子の検索を進めている。また TLR の解析についても、以前、頭脳循環プログラムでベイラー医科大学に派遣された、永島と現在も共同で解析を行っている（新たに原著 1 報を発表）。

大分大学がアジア各国との共同研究で得られた胃粘膜検体 192 例について、GWAS 一次解析（東京大学との共同研究）を完了した。現在、人種や民族間で異なる胃癌発症に関わる宿主要因を検索すべく、二次解析を行っている。また、大分大学の山岡の講座にて解読されたピロリ菌ゲノム上の MLST とこれら疾患との関連性についても検討する。

以上、彼は主に、3) ピロリ菌とヒトの相互作用と共進化の理解の検討を続けている。なお、上述の魚谷も、GWAS の基本となる SNPs の検討を行っており、PCNA の遺伝子変異が、疾患と関連することを見出し、本年度、ワシントン DC で開かれたアメリカ消化器病週間でその成果を発表し、Journal of Digestive Diseases へ論文を掲載した。

4) 疫学的視点をもった医学研究者の育成に関しては、平成 26 年度、別経費でベイラー医科大学へ派遣した塩田が大分大学に帰任し、現在も、主要連携研究者である El-Serag 教

授（ベイラー医科大学消化器内科）とともに研究を進めており、平成 28 年度に本事業にて留学希望の若手研究者の指導も行っている。さらに、本年度は、ベイラー医科大学からの研究者招へいとして、疫学研究者の Hoda Malaty 准教授に大分大学へ来ていただいた。現在、大分大学には、ピロリ菌プロジェクトで学ぶ大学院生が 10 名（うち 6 名は国費留学生；ベトナム、タイ、インドネシア、モンゴル、ネパール、コンゴ共和国）在籍している。本年度の招へいでは、彼らに疫学研究の基礎を教えるとともに、実際に彼らの持つ疫学データの解析法の指導をしていただいた。また、帰国後も実際のデータ解析について、大学院生に指導をいただいている。これとは別に、週に一度（日本時間の金曜日午前；アメリカ時間の木曜日夕刻）、大分大学 - ベイラー医科大学の共同研究室ミーティング（ビデオ会議）を開いており、両施設での研究進捗を常に共有する体制がひかれているため、**4) 疫学的視点をもった医学研究者の育成が着実に行えている**。その成果として、**3) ピロリ菌とヒトの相互作用と共進化の理解**に関わるついて本年度新たに 8 報の原著を報告した。一方、松本においては、今後、ピロリ菌の研究拠点として必要不可欠な基盤形成の為、次世代シーケンス解析が行える研究体制を大分大学にて構築した。即ち、ピロリ菌全ゲノム解析に加え、16S メタゲノム解析を進行しており、アジア各国から収集された数百検体の胃マイクロバイオームと疾患との関連について検討を進めている。これらの基盤を活かし、最終目標である大分大学 DDC 内にゲノム解析を基盤とした基礎研究グループを立ち上げたい。

3. 到達目標に対する本年度の達成度及び進捗状況

本年度の実績概要で述べたように、研究者の派遣・招へい者事業、基礎研究および若手育成ともに、予定以上の成果を生んでおり、到達目標は十二分に達成したと自負する。若手研究者派遣の成果として、基礎研究テーマを発展させることができ、魚谷が原著論文 2 報を掲載、田中については共著 2 報に加え、現在、主要論文を執筆中である。特に、魚谷は、メインテーマであった胃由来 Organoid 作成に成功し、感染実験まで行えており十分な進展と言える。いくつかのピロリ菌遺伝子変異株の培養系も確立できており、この胃由来 Organoid を用いた新たな病原因子の検索方法確立にむけ、順調に進んでいる。ヒトの疾患感受性因子についてもオートファジー関連因子が同定でき、当初の到達目標をクリアできている。

招へい事業についても、当初予定していたとおりの計画を遂行でき、いくつかの研究テーマについて研究をまとめることができた。さらに、本年度は、これらネットワークを拡大・発展させることに成功し、より活発な研究活動を展開できた。実際に、本年度の研究成果として、その他国際共同研究に関する原書についても数多く報告できており、これは予想以上の成果であった。また、これら研究プロジェクトに若手研究者を活用することで、その育成もより効果的に行えた。

4. 日本側研究グループ（実施主体）の研究成果発表状況（本年度分）

①学術雑誌等（紀要・論文集等も含む）に発表した論文又は著書

論文名・著書名 等	
<p>（論文名・著書名、著者名、掲載誌名、査読の有無、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）について記入してください。）（以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。）</p> <ul style="list-style-type: none"> ・査読がある場合、印刷済及び採録決定済のものに限って記載して下さい。査読中・投稿中のものは除きます。 ・さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。 ・著者名について、主著者に「※」印を付してください。また、主担当研究者には<u>二重下線</u>、担当研究者については<u>下線</u>、若手研究者については<u>波線</u>を付してください。 ・海外の連携機関の研究者との国際共著論文等には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共著論文等については番号の前に「○」印を付してください。 	
○ 1	Aftab H, Miftahussurur M, Subsomwong P, Ahmed F, Khan AA, ※ <u>Yamaoka Y</u> . Helicobacter pylori antibiotic susceptibility patterns in Bangladesh: Emerging levofloxacin resistance. J Infect Dev Ctries. 2016 Mar 31;10(3):245-53. 査読有
○ 2	Matsunari O, Miftahussurur M, <u>Shiota S</u> , Suzuki R, Vilaichone RK, Uchida T, Ratanachu-Ek T, Tshering L, Mahachai V, ※ <u>Yamaoka Y</u> . Rare Helicobacter pylori Virulence Genotypes in Bhutan. Sci Rep. 2016 Mar 2;6:22584. 査読有
○ 3	Miftahussurur M, ※ <u>Yamaoka Y</u> . Diagnostic Methods of Helicobacter pylori Infection for Epidemiological Studies: Critical Importance of Indirect Test Validation. Biomed Res Int. 2016;2016:4819423. 査読有
○ 4	Vilaichone RK, Ratanachu-Ek T, Gamnarai P, Chaithongrat S, Uchida T, ※ <u>Yamaoka Y</u> , Mahachai V. Extremely High Prevalence of Metronidazole-Resistant Helicobacter pylori Strains in Mountain People (Karen and Hmong) in Thailand. Am J Trop Med Hyg. 2016 Feb 15. pii: 15-0449. [Epub ahead of print] 査読有
○ 5	Syam AF, ※Miftahussurur M, Uwan WB, Simanjuntak D, Uchida T, <u>Yamaoka Y</u> . Validation of Urine Test for Detection of Helicobacter pylori Infection in Indonesian Population. Biomed Res Int. 2015;2015:152823. 査読有
◎ 6	<u>Uotani T</u> , Sugimoto M, Ichikawa H, <u>Tanaka S</u> , <u>Nagashima H</u> , Uchida T, Graham DY, ※ <u>Yamaoka Y</u> . Prostate stem cell antigen gene TT genotype and development of intestinal metaplasia in Helicobacter pylori infection. J Dig Dis. 2016 Jan;17(1):20-7. 査読有
◎ 7	※Tegtmeyer N, Moodley Y, <u>Yamaoka Y</u> , Pernitzsch SR, Schmidt V, Traverso FR, Schmidt TP, Rad R, Yeoh KG, Bow H, Torres J, Gerhard M, Schneider G, Wessler S, Backert S. Characterisation of worldwide Helicobacter pylori strains reveals genetic conservation and essentiality of serine protease HtrA. Mol Microbiol. 2016 Mar;99(5):925-44. 査読有
○ 8	Miftahussurur M, Sharma RP, Shrestha PK, Maharjan RK, <u>Shiota S</u> , Uchida T, Sato H, ※ <u>Yamaoka Y</u> . Helicobacter pylori Infection and Gastric Mucosal Atrophy in Two Ethnic Groups in Nepal. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(17):7911-6. 査読有
○ 9	<u>Uotani T</u> , Miftahussurur M, ※ <u>Yamaoka Y</u> . Effect of bacterial and host factors on Helicobacter pylori eradication therapy. Expert Opin Ther Targets. 2015 Dec;19(12):1637-50. 査読有

○ 10	Syam AF, Miftahussurur M, Makmun D, Nusi IA, Zain LH, Zulkhairi, Akil F, Uswan WB, Simanjuntak D, Uchida T, Adi P, Utari AP, Rezkitha YA, Subsomwong P, Nasronudin, Suzuki R, ※ <u>Yamaoka Y</u> . Risk Factors and Prevalence of Helicobacter pylori in Five Largest Islands of Indonesia: A Preliminary Study. PLoS One. 2015 Nov 23;10(11):e0140186. 査読有
◎ 11	※ <u>Nagashima H</u> , Iwatani S, Cruz M, Jiménez Abreu JA, Uchida T, Mahachai V, Vilaichone RK, Graham DY, <u>Yamaoka Y</u> . Toll-like Receptor 10 in Helicobacter pylori Infection. J Infect Dis. 2015 Nov 15;212(10):1666-76. 査読有
◎ 12	Dendup T, Richter JM, <u>Yamaoka Y</u> , Wangchuk K, ※Malaty HM. Geographical distribution of the incidence of gastric cancer in Bhutan. World J Gastroenterol. 2015 Oct 14;21(38):10883-9. 査読有

②学会等における発表

発表題名 等	
<p>(発表題名、発表者名、発表した学会等の名称、開催場所、口頭発表・ポスター発表の別、審査の有無、発表年月(西暦)について記入してください。)(以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。)</p> <ul style="list-style-type: none"> 発表者名は参加研究者を含む全員の氏名を、論文等と同一の順番で記載すること。共同発表者がいる場合は、全ての発表者名を記載し、主たる発表者名は「※」印を付して下さい。発表者名について主担当研究者には<u>二重下線</u>、担当研究者については<u>下線</u>、若手研究者については<u>波線</u>を付して下さい。 口頭・ポスターの別、発表者決定のための審査の有無を区分して記載して下さい。 さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。 海外の連携機関の研究者との国際共同発表には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共同発表については番号の前に○印を付して下さい。 	
◎ 1	<p>Analysis of autophagy related genes in patients with <i>Helicobacter pylori</i> infection. ※ <u>Shingo Tanaka</u>, <u>Hiroyuki Nagashima</u>, <u>Takahiro Uotani</u>, David Y. Graham, <u>Yoshio Yamaoka</u>. Digestive Disease Week 2015. Washington, DC. ポスター. 審査有. 2015年5月17日</p>
◎ 2	<p>Prostate stem cell antigen gene polymorphisms as a predictive factor for H.pylori infection associated intestinal metaplasia. ※<u>Takahiro Uotani</u>, Mitsushige Sugimoto, Hitomi Ichikawa, <u>Shingo tanaka</u>, Hiroyuki Nagashima, Tomohisa Uchida, Takahisa Furuta, David Y. Graham and <u>Yoshio Yamaoka</u>. Digestive Disease Week 2015. Washington, DC. ポスター. 審査 有. 2015年5月17日</p>
◎ 3	<p>Toll-like Receptor 10 in Helicobacter pylori Infection. ※<u>Hiroyuki Nagashima</u>, Shun Iwatani, <u>Shingo Tanaka</u>, <u>Takahiro Uotani</u>, Modesto Cruz, José A. Jiménez Abreu, Tomohisa Uchida Varocha Mahachai, Ratha-korn Vilaichone, David Y. Graham, <u>Yoshio Yamaoka</u> Digestive Disease Week 2015, Washington DC. 口頭発表. 審査有. 2015年5月17日</p>
○ 4	<p>ヘリコバクター・ピロリゲノムの地理的多様性と人類の移動. ※鈴木留美子, <u>山岡吉生</u>. 日本ヘ リコバクター学会. 神戸. 口頭発表. 審査有, 2015年6月26日.</p>
◎ 5	<p>H. pylori 感染症における Toll-like receptor 10 の役割. ※<u>永島裕之</u>, <u>魚谷貴史</u>, 鈴木留美子, 内田智久, David Graham, <u>山岡吉生</u>. 日本ヘリコバクター学会. 神戸. 口頭発表. 審査有, 2015 年6月26日. 優秀演題賞 受賞</p>

5. 若手研究者の派遣実績（計画）

【海外派遣実績（計画）】

年度	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	合計
派遣人数	2 人	2 人 (2 人)	3 人 (1 人)	4 人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

【本年度の海外派遣実績】

派遣者②の氏名・職名：魚谷貴洋 ポスドク

（当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）

魚谷は、平成 26 年 4 月より、ペイラー医科大学に留学を開始し、以降、主要連携研究者である Estes 教授の指導のもと、ヒト胃 Organoid システムを用いたピロリ菌感染実験系を確立することが本年度の主な役割であった。さらに変異株を用いたピロリ菌の機能解析を行い、次世代シーケンサーで候補となっている新規病原因子の役割、さらには我々が見出したヒト特有 TLR のピロリ菌感染における機能解析を行い、大分大学で行う動物実験など対比させて、2 年目での大きな成果を期待した。帰国後は、大分 DDC の基礎研究部門の中心となり、臨床研究との橋渡しの役割も期待する。

（具体的な成果）

当初の計画どおり、ヒト胃 Organoid システムを確立し、ピロリ菌感染実験を行った。本年度、原著論文を 2 報報告し、これら研究成果を国際学会でも発表した。事業計画当初は、平成 27 年度末に帰国する予定であったが、確立したヒト胃 Organoid システムを用いたこれら基礎研究を今後も進めるため、引き続き平成 28 年度も米国にて研究活動を行う。大分大学の松本らと共同研究を行い、次世代シーケンスや動物実験についても今後進めていく。

派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
米国、ペイラー医科大学 医学部、 David Y. Graham 教授、Hashem B. El-Serag 教授、Mary K. Estes 教授	180 日	366 日	330 日	876 日

派遣者③の氏名・職名：田中信悟 ポスドク

（当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）

大分大学が、アジア各国との共同研究で得られた胃粘膜検体およびそこから培養された臨床ピロリ菌の遺伝子との相関性を検討することを国際共同研究における役割としていた。すなわち、胃粘膜検体からは、RNA および DNA を抽出し、マイクロアレイによって mRNA 遺伝子発現量を比較し、GO 解析および Pathway 解析を行う。また、DNA については GWAS 解析を行い、胃癌とその宿主要因についての検討を行う。さらに、これらを組み合わせ、宿主要因、ピロリ菌の各種病原因子、さらには MLST を利用したピロリ菌の進化についても比較、検討する。

（具体的な成果）

マイクロアレイの結果、オートファジーに関与する因子がピロリ菌感染胃粘膜で優位に上昇していることを発見した。さらに、IL-17cの発現もピロリ菌感染胃粘膜で上昇していることを見出し、In vitroの系も含めて検討を行った。これら研究成果を国際学会にて発表し、現在論文を執筆中である。また、本事業において、本年度は共著論文を2報報告した。GWAS解析（東京大学との共同研究）を予定どおり終了した。現在、大分大学においてこれら検体から分離されたピロリ菌のゲノム配列を解読し、関連のある病原遺伝子について検索している（二次解析）。また、3月には大分大学にて次世代シーケンス解析を含めた今後の計画について山岡、松本らと協議を行った。

派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
米国、ベイラー医科大学 医学部、 David Y. Graham 教授、Hashem B. El-Serag 教授、Mary K. Estes 教授	180 日	335 日	0 日	515 日

※本年度の派遣者毎に作成すること。

6. 研究者の招へい実績（計画）

【招へい実績（計画）】

年度	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	合計
招へい人数	1 人	1 人 (1 人)	6 人 (1 人)	6 人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

【本年度の招へい実績】

招へい者①の氏名・職名：HODA MALATY 准教授

<p>(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)</p> <p>疫学の専門家であり、山岡と共著で Lancet などに論文を発表している。大分大学において、大学院生（多数の国費留学生を含む）および若手研究者に対しての現地調査モデル形成、疫学解析方法、さらには論文作成法について系統講義および個別研究指導を行ってもらった。</p> <p>(具体的な成果)</p> <p>本年度、本事業における国際共同研究ネットワークを活かし、ブータンにおけるピロリ菌の疫学調査についての原著論文を1報報告した。また、招へい時には、学生、大学院生および若手研究者に対して当初予定していた講義および個別指導を行った。また、現在執筆中の複数の論文について、疫学的な視点からアドバイスをいただき、現地データの解析についても実際に指導をいただき、想定以上の成果が得られた。</p>				
招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
米国 ベイラー医科大学 医学部 山岡 吉生（大分大学）	25 日	17 日	0 日	42 日

※本年度の招へい者毎に作成すること。

7. 翌年度の補助事業の遂行に関する計画

該当なし

※ 補助事業が完了せずに国の会計年度が終了した場合における実績報告書には、翌年度の補助事業の遂行に関する計画を附記すること。