| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

# 学術研究助成金〔独創的・先駆的研究〕
# 実 績 報 告 書

令和　5 年　　5 月　8　日


氏　　名：　早川　智

所属・資格：　医学部・教授

実施研究所：　医学部・総合医学研究所


1　研究課題

| 新興感染症・再興感染症に対するレジリエンスを目的とした国際的・学際的研究拠点形成 |
|---|

2　研究期間

令和　4 年度　～　令和　5 年度

※令和　　年度　～　令和　　年度（※特例措置により上記期間を変更している場合記入すること）

3　研究組織

研究代表者及び研究分担者

| | 氏　　名<br>（研究者番号） | 部科校・資格<br>学　　位 | 専門領域 | 役割分担 |
|---|---|---|---|---|
| 研究代表者 | 早川　智<br>（30238084） | 医学部・教授<br>医学博士 | 感染症学<br>産婦人科学 | 研究の総括．感染研究拠点形成と病原体，免疫応答の解析 |
| 研究分担者 | 泉福　英信<br>（20250186） | 松戸歯学部・教授<br>博士（歯学） | 微生物学<br>ゲノム科学 | 医科．歯科領域の病原体解析と分子疫学 |
| | 木村　政司<br>（00307886） | 芸術学部・教授<br>（修士・美術学 MFA） | デザイン学，<br>科学教育 | サイエンスコミュニケーション，国民への啓発 |
| | 福田　充<br>（20316508） | 危機管理学部・教授<br>博士（政治学） | 危機管理学 | 社会危機としての感染症に対する指針とその評価 |
| | 権 赫旭<br>（80361856） | 経済学部・教授<br>博士（経済学） | 経済学 | 感染症の社会．経済に与える影響の解析と対応 |
| | 森岡　一朗<br>（80437467） | 医学部・教授<br>博士（医学） | 小児科学 | 小児における COVID-19 感染 |
| | 本田　和也<br>（30199567） | 歯学部・教授<br>歯学博士 | 歯科医学・国際医療協力 | 途上国における遠隔診断と医療協力 |
| | 蜂巣　浩生<br>（30228481） | 理工学部・教授<br>博士（工学） | 建築学 | 感染症に対し耐性のある建築と都市設計 |
| | 佐藤　秀一<br>（50225942） | 歯学部・教授<br>博士（歯学） | 歯科医学・口腔感染症学 | 口腔感染症と下気道感染症の関連 |
| | 川名　敬<br>（60311627） | 医学部・教授<br>博士（医学） | 産婦人科学 | COVID-19 母子感染の解析 |

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 木下　浩作<br>（90260968） | 医学部．教授<br>医学博士 | 救急医学 | 救命救急，重症者の全身管理 |
| | 佐藤　真伍<br>（60708593） | 生物資源科学部・准教授　博士（獣医学） | 獣医公衆衛生学 | 人獣共通感染症の制御 |
| 合計　　13 名 | | | | |

研究協力者

| | 氏　　名<br>（研究者番号） | 部科校・資格<br>学　　位 | 専門領域 | 役割分担 |
|---|---|---|---|---|
| 研究協力者 | 権　寧博<br>（80339316） | 医学部・教授<br>医学博士 | 呼吸器内科学 | 呼吸器感染症 |
| | 丸山総一<br>（30181829） | 生物資源科学部・教授<br>博士（獣医学） | 獣医公衆衛生学 | 人獣共通感染症の制御 |
| | 相澤志保子<br>（30513858） | 医学部・准教授<br>博士（医学） | 微生物学 | SARS-CoV-2 のウイルス学的解析 |
| | 武市　収<br>（10277460） | 歯学部・教授<br>歯学博士 | 歯科医学・口腔感染症学 | 口腔感染症と自己免疫疾患の関連 |

**※ホームページ等での公開（☑可・□否）**いずれかをチェックしてください．

否の場合は，理由書を別途添付のこと．

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

4　現在までの達成度

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を 100%として，以下の区分より自己評価を行ってください．
＜区分＞①当初の計画以上に進展している．②概ね順調に進展している．③やや遅れている．

【区分：　①　　】・【達成度：　120　　%】

現時点で 30 本以上の英文論文を発表するとともに，韓国やバングラデシュ，タイからの留学生受け入れ，米国からの Sabbatical 教員の招聘，特許出願，学部学生や大学院生，研修医による論文執筆など順調に進んでいる．代表者は本研究費の助成により日本医学会総会で招請講演を行うという栄誉を得るとともに厚労省の「新型コロナウイルス感染症診療の手引き」や「日本医学会連合エキスパートオピニオン」策定に参画するなど，国の方針決定に関与している．

5　研究目的

本研究の目的は，多分野の研究者が参画する感染症研究拠点を日本大学に形成することである．そのためには医歯系，理工系，文系学部が協力し，海外の大学や研究所と共に，総合的な研究を進める必要がある．COVID-19 の終息後も同様のパンデミックがいつまた生じるかわからず，感染性や致死率によってはさらなる混乱が生じる可能性があるからである．日本大学が新興・再興感染症の研究拠点を形成し，感染症予防と啓発の中心となること，ならびに感染症による社会への影響を抑え，レジリエンスの高い社会を構築する「知のセンター」となることを目指し，研究成果をもとに，重篤な感染症の病態を病原体，宿主，社会環境と法的背景から解析し，新たな検査法とワクチン開発ならびに普及を行ことで国際貢献に尽力する．そのために，日本大学の複数学部が各々の背景を生かして有機的なコンソーシアムを形成し，社会に発信するとともに，留学生の派遣や受け入れ，在外研究者の協力を得て次世代の研究者を育成する．

6　研究概要

1）二つの付属病院で実際に患者を診察する医学部，また独自の病院を有する歯学部，松戸歯学部，生物資源科学部さらに関連病院で COVID-19 に限らず様々な感染症の先端的な診療を通じて臨床的研究を行うとともに，臨床検体を収集し BSL3 実験施設のある医学部板橋キャンパスで病原体の解析を行う．また動物モデルや分子生物学的解析を行う．

2）共同研究体制を構築している国内他施設（国立感染症研究所，国立国際医療センター，東京大学，明海大学，埼玉医科大学）並びに海外では　ハンヤン大学（韓国），チェンマイ大学（タイ王国），ダッカ大学（バングラデシュ），UCLA，City of Hope 研究所（米国）と共同研究を進める．これらの大学から留学生を集めるとともに，海外での医学研究を志す若者を送り出す．

3）次世代の日本大学を担う学部学生や大学院生，研修医を積極的に研究に参画させ，彼ら彼女らの名前で査読付き英文論文を発表する．

4）研究成果をもとに，国の指針に参画しアカデミアからの情報発信を行う．

5）研究成果をできるだけ IF の高い英文雑誌に投稿するとともに特許を取得する．

6）基盤 B 以上の大型科研費と，AMED や CREST などの公的研究費に加え，企業からの委託研究や寄付講座，奨学寄付金などの外部資金を獲得する．

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

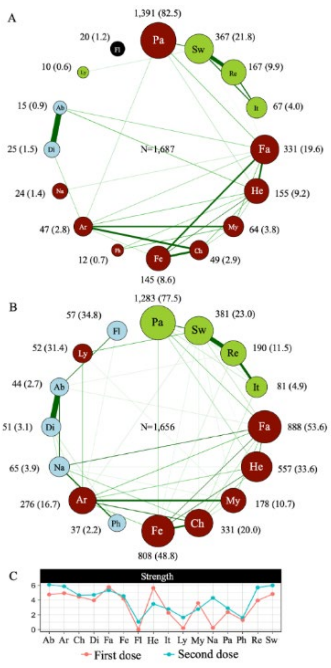
【様式 5 独創的・先駆的研究】

7　研究結果（4,000 字以上記入のこと）

**早川　智（医学部）：**

**1）我が国の妊婦における COVID-19 感染状況とワクチン接種の諸問題（相澤，並木，早川）**

**副反応調査①**　COVID-19 ワクチンの接種は重症化予防に有用であるが，副反応からこれを拒絶する人もいる．日本人のワクチン接種後の副反応を調査するため，医学部および付属病院の医師，看護師，その他の医療スタッフ，医学部教職員，学生を含む医療従事者を対象に調査研究を実施した．また，ネットワーク分析により，さまざまな有害事象と個々の要因（年齢，性別など）との関連性を分析した．若年齢と女性は，しばしばより重篤な有害事象の危険因子と考えられているが，回帰モデルの結果，本研究では，年齢も性別も 2 回目の接種後の局所の副反応と関連していなかった．局所反応とは対照的に，全身性の有害事象は若年者および女性に多く認められた．ネットワーク解析の結果，筋肉痛は関節痛との関連があった．また，1 回目と 2 回目の両方のワクチン接種後に生じた全身性事象は年齢と関連しなかった．[1]




**副反応調査②**　COVID-19 ワクチンと月経不順や不正出血などの婦人科系有害事象が報告されているため，その頻度と重症度を解析した．日本国内の一施設で接種を受けた男女にアンケート調査を実施した．回答は 819 件で，女性からの回答は 424 件であった．異常出血の頻度は，初回，2 回目，3 回目でそれぞれ 0.6%，1.0%，3.0%であった．月経不順は，初回，2 回目，3 回目でそれぞれ 1.9%，4.9%，6.6%であった．ネットワーク解析の結果，異常出血および月経不順は，他の副作用と関連していないことが判明した．本研究により COVID-19 ワクチン接種による月経への影響は限定的であることが示された．[2]

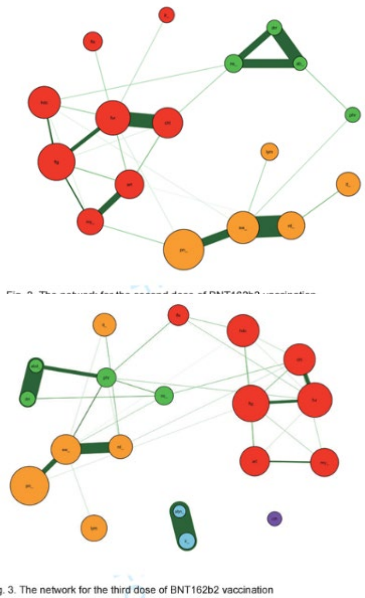


Fig. 3. The network for the third dose of BNT162b2 vaccination

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

**妊婦における接種状況と副反応**　日本の妊婦の COVID-19 ワクチンの接種状況および副反応を調査するため，2021 年 10 月 5 日から 11 月 22 日まで，妊婦を対象にオンラインアンケート調査を実施した．オンライン調査への参加者数は 6576 名であった．参加者のワクチン接種歴は，2 回接種が 4840 人（73.6%），1 回接種が 557 人（8.5%）であった．COVID-19 のワクチン接種を受けたことがない参加者は 1179 名（17.9%）であった．最も頻度の高い副反応は，注射部位の局所痛であった．局所的な副反応の発生率は 1 回目と 2 回目でほぼ同じであったが，発熱や疲労・倦怠感などの全身的な副反応，頭痛や関節痛などの接種部位以外の副反応は，1 回目の接種後よりも 2 回目の接種後に多く発生した．産科的合併症については，腹緊と子宮収縮が 1 回目接種後 1.65%，2 回目接種後 2.98%に認められ，子宮痛は 2 回目接種後 1.06%に出現した．しかし，出血，胎動低下，浮腫，血圧上昇，破水などの重篤な症状がみられたのは，1 回目，2 回目ともに接種した妊婦の 1%未満だった．

**TABLE 2** Comparison of the incidence of abnormal bleeding and irregular menstrual cycles after each dose of the BNT162b2 vaccine

| Comparison | *p*-Value | Odds ratio | 95% confidence interval |
|---|---|---|---|
| Abnormal bleeding | | | |
| 1st vs. 2nd | 1.000 | 153.5 | 38.2–616.5 |
| 1st vs. 3rd | 0.047* | 148.0 | 36.8–594.6 |
| 2nd vs. 3rd | 0.105 | 98.7 | 31.6–307.7 |
| Irregular menstrual cycle | | | |
| 1st vs. 2nd | 0.006* | 48.3 | 21.5–108.5 |
| 1st vs. 3rd | 0.006* | 47.5 | 21.2–106.6 |
| 2nd vs. 3rd | 0.424 | 19.0 | 11.3–31.9 |

*Statistically significant.

**Table 3** Adverse reaction or obstetric and gynecological symptoms of pregnant women after vaccination

| | First vaccination | | Second vaccination | | *p*-Value[a] | Effect size[b] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *n* | % | *n* | % | | |
| Adverse reactions | (*n* = 5032) | | (*n* = 4587) | | | |
| Pain at the inoculation site | 4873 | 96.84 | 4248 | 92.61 | <0.001 | 0.095 |
| Swelling at the inoculation site | 1511 | 30.03 | 1470 | 32.05 | 0.032 | 0.022 |
| Fever | 608 | 12.08 | 2554 | 55.68 | <0.001 | 0.464 |
| Fatigue/malaise | 1504 | 29.89 | 3003 | 65.47 | <0.001 | 0.356 |
| Headache | 711 | 14.13 | 1756 | 38.28 | <0.001 | 0.276 |
| Uncomfortable/vomiting | 191 | 3.80 | 506 | 11.03 | <0.001 | 0.139 |
| Diarrhea | 103 | 2.05 | 137 | 2.99 | 0.003 | 0.030 |
| Abdominal pain | 54 | 1.07 | 114 | 2.49 | <0.001 | 0.054 |
| Arthralgia | 220 | 4.37 | 1022 | 22.28 | <0.001 | 0.267 |
| Rash | 51 | 1.01 | 47 | 1.02 | 0.957 | 0.001 |
| Sore throat | 30 | 0.60 | 53 | 1.16 | 0.003 | 0.030 |
| Anaphylactic reaction | 1 | 0.02 | 4 | 0.09 | 0.199 | 0.015 |
| Others | 159 | 3.16 | 240 | 5.23 | <0.001 | 0.052 |
| bstetric and gynecological symptoms | (*n* = 5393) | | (*n* = 4834) | | | |
| Uterine tension or contraction | 89 | 1.65 | 144 | 2.98 | <0.001 | 0.044 |
| Bleeding | 46 | 0.85 | 38 | 0.79 | 0.708 | 0.004 |
| Uterin pain | 23 | 0.43 | 51 | 1.06 | <0.001 | 0.037 |
| Decreased fetal movement | 23 | 0.43 | 25 | 0.52 | 0.503 | 0.007 |
| Swelling | 17 | 0.32 | 19 | 0.39 | 0.507 | 0.007 |
| Increased blood pressure | 5 | 0.09 | 7 | 0.14 | 0.442 | 0.008 |
| Amniorrhexis | 1 | 0.02 | 2 | 0.04 | 0.606 | 0.007 |
| Others | 98 | 1.82 | 108 | 2.23 | 0.134 | 0.015 |

]sing the chi-squared test or Fisher's exact test. and [b]Effect size was calculated by Cramer's V (≥0.1: small, ≥0.3: medium, ≥0.5: large) for e chi-square test.

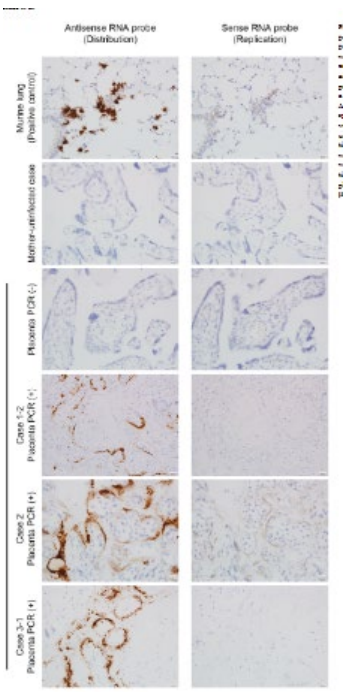

1. Namiki T, Komine-Aizawa S, Takada K, Takano C, Trinh QD, Hayakawa S. Adverse events after BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccination in health care workers and medical students in Japan. J Infect Chemother. 2022 Aug;28(8):1220-1224. doi: 10.1016/j.jiac.2022.05.002.
2. Namiki T, Komine-Aizawa S, Takada K, Takano C, Trinh QD, Hayakawa S. The association of three doses of the BNT162b2 mRNA vaccine with abnormal bleeding and an irregular menstrual cycle among premenopausal females: A single institute observation study. J Obstet Gynaecol Res. 2022 Nov;48(11):2903-2910. doi: 10.1111/jog.15400.
3. Komine-Aizawa S, Haruyama Y, Deguchi M, Hayakawa S, Kawana K, Kobashi G, Miyagi E, Yamada H, Sugiyama T. The vaccination status and adverse effects of COVID-19 vaccine among pregnant women in Japan in 2021. J Obstet Gynaecol Res. 2022 Jul;48(7):1561-1569. doi: 10.1111/jog.15285

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

**2）SARS-CoV-2 の母児感染と胎盤関門　（高田・相澤・早川）**

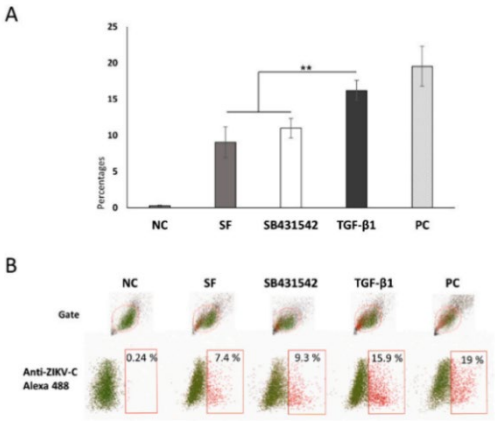
SARS-CoV-2 はしばしばヒトの胎盤組織に感染するが，垂直感染はまれである．従って胎盤には胎児へのウイルス感染を抑制するバリアが存在する可能性がある．SARS-CoV-2 感染妊婦の胎盤を用いてスパイクタンパク質を標的としたアンチセンスプローブを用いた in situ ハイブリダイゼーションを行った．ヒト胎盤組織における SARS-CoV-2 ゲノムの存在を確認できたが，複製は途中で止まっていた．いわゆる abortive infection が SARS-CoV2 に対する胎盤バリアの本態である可能性がある．




Takada K, Shimodai-Yamada S, Suzuki M, Trinh QD, Takano C, Kawakami K, Asai-Sato M, Komatsu A, Okahashi A, Nagano N, Misawa T, Yamaguchi K, Suzuki T, Kawana K, Morioka I, Yamada H, Hayakawa S, Hao H, Komine-Aizawa S. Restriction of SARS-CoV-2 replication in the human placenta. Placenta. 2022 Sep;127:73-76. doi: 10.1016/j.placenta.2022.07.010. Epub 2022 Jul 19. PMID: 35973367; PMCID: PMC9293377.

**3）ジカ熱の母児感染と胎盤関門　（Trinh・早川）**

ジカウイルス（ZIKV）は，妊娠中に感染すると先天性ジカ症候群を引き起こすが胎盤バリアを通過するメカニズムは不明である．我々は脱落膜局所における母児免疫寛容に関与する TGF-β1 が母子感染に重要な役割を果たすことを明らかにした．不死化ヒト絨毛細胞，Swan.71 を TGF-β1（10ng/mL）で 2 日間処理すると ZIKV の感染促進が見られた．この反応は TGF-β/Smad シグナル伝達経路の阻害剤である SB431542 または SB525334 で抑制された．TGF-β1 はレセプター遺伝子 Tyro3 および AXL の発現増強を来すことが判明した．

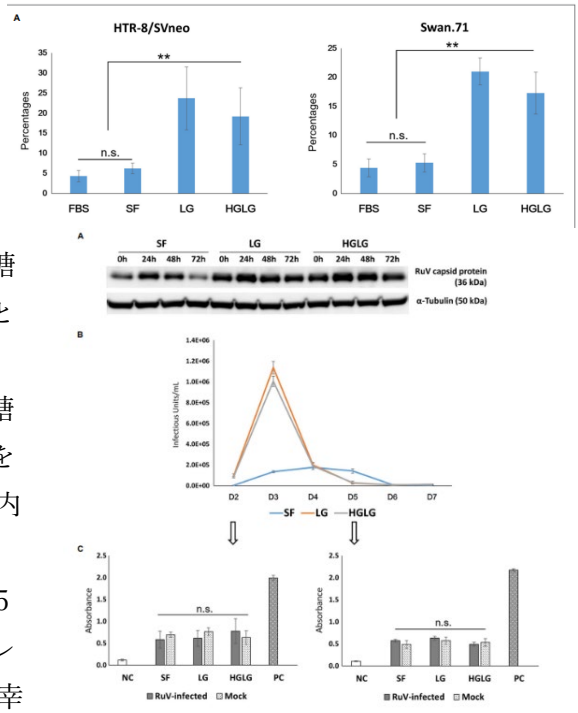



1. Trinh QD, Pham NTK, Takada K, Takano C, Komine-Aizawa S, Hayakawa S. TGF-β1 Promotes Zika Virus Infection in Immortalized Human First-Trimester Trophoblasts via the

Smad Pathway. Cells. 2022 Sep 27;11(19):3026. doi: 10.3390/cells11193026. PMID: 36230987; PMCID: PMC9562857.

2. Trinh QD, Pham NTK, Takada K, Ushijima H, Komine-Aizawa S, Hayakawa S. Roles of TGF-β1 in Viral Infection during Pregnancy: Research Update and Perspectives. Int J Mol Sci. 2023 Mar 30;24(7):6489. doi: 10.3390/ijms24076489. PMID: 37047462; PMCID: PMC10095195.

**4）風疹の母子感染と胎盤関門（Trinh・高野・並木・相澤・早川）**



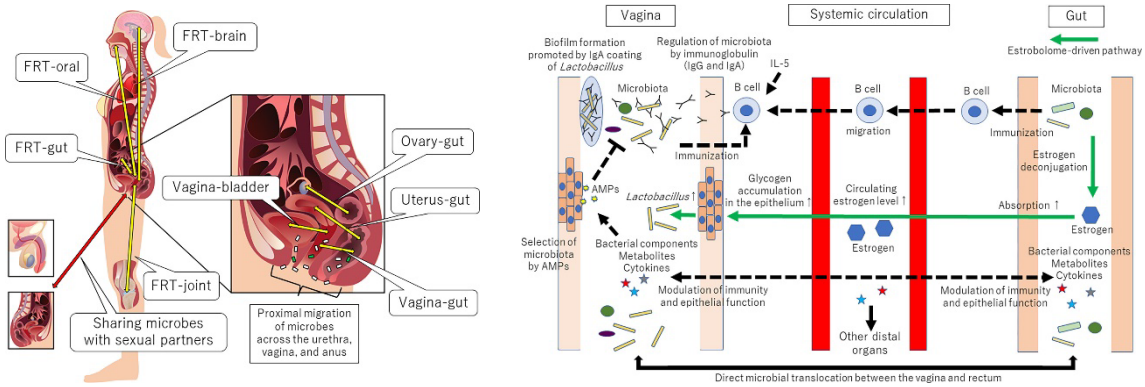

妊娠初期の風疹ウイルス（RuV）感染は，先天性風疹症候群（CRS）を引き起こす可能性がある．しかし，胎児の RuV 感染のメカニズムは完全には解明されておらず，従来の報告では胎盤の絨毛細胞は RuV に低感受性と言われてきた．一方では　コントロール不良の妊娠糖尿病は先天性ウイルス感染症の危険因子であるとされる．我々は不死化したヒト初期絨毛細胞 HTR-8/SVneo および Swan.71 を用いて，低血糖による小胞体ストレスが感受性を誘導することを明らかにした．RuV カプシドタンパク質の細胞内局在に加え，上清中への放出が認められた．LG ストレスを受けた細胞では，ウイルス結合が約 5 倍増加したが，その機序は不明であり，未知のレセプターを介する可能性がある．[1, 2]　次に，不幸にして先天風疹症候群を発症した小児の予後因子を解析した．先天性風疹症候群（CRS）は，妊娠初期の母体風疹ウイルス感染に起因する．過去に少数の CRS 患者において神経画像異常所見が解析されているが，その臨床的意義は十分に検討されていない．そこで，過去の研究から CRS 患者 31 名の神経画像所見を調査した．最も多い所見は実質石灰化であり，31 人中 18 人（58.1%）に認められた．多変量ロジスティック回帰モデルにより，精神運動または精神遅滞との関連が示され（$p = 0.018$），CRS における脳実質石灰化は予後因子となりうることが示唆された．[3]

1. Trinh QD, Takada K, Pham NTK, Takano C, Namiki T, Ikuta R, Hayashida S, Okitsu S, Ushijima H, Komine-Aizawa S, Hayakawa S. Enhancement of Rubella Virus Infection in Immortalized Human First-Trimester Trophoblasts Under Low-Glucose Stress Conditions. Front Microbiol. 2022 Jul 8;13:904189. doi: 10.3389/fmicb.2022.904189. PMID: 35875557; PMCID: PMC9304883.
2. Pham NTK, Trinh QD, Takada K, Komine-Aizawa S, Hayakawa S. Low Susceptibility of Rubella Virus in First-Trimester Trophoblast Cell Lines. Viruses. 2022 May 27;14(6):1169. doi: 10.3390/v14061169. PMID: 35746641; PMCID: PMC9228130.

3. Namiki T, Takano C, Aoki R, Trinh QD, Morioka I, Hayakawa S. Parenchymal calcification is associated with the neurological prognosis in patients with congenital rubella syndrome. Congenit Anom (Kyoto). 2022 Jan;62(1):38-41. doi: 10.1111/cga.12442. Epub 2021 Aug 23. PMID: 34396588.

**5）女性生殖器の粘膜免疫と細菌叢　（高田　早川）　ロシアとの国際共同研究**

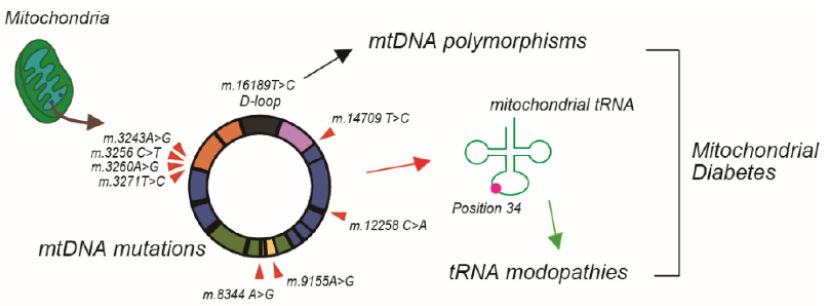
女性生殖器（FRT）と体内の各種臓器は双方向のコミュニケーションを共有している．我々は "FRT-organ axes "というパラダイムを提唱する．すなわち，膣-腸軸，子宮-腸軸，卵巣-腸軸，膣-膀胱軸，膣-口腔軸，子宮-口腔軸，膣-脳軸，子宮-脳軸，膣-関節軸といった関連で様々な病態を説明できる．膣に存在する微生物叢が FRT-organ 軸の主役であり，乳酸桿菌が重要であるが，宿主の免疫能が深く関与する．FRT-organ 軸の検討から女性の身体の恒常性維持機構を理解し，新たな治療法を見出すためのヒントを与えてくれる可能性がある．




Takada K, Melnikov VG, Kobayashi R, Komine-Aizawa S, Tsuji NM, Hayakawa S. Female reproductive tract-organ axes. Front Immunol. 2023 Jan 31;14:1110001. doi: 10.3389/fimmu.2023.1110001. PMID: 36798125; PMCID: PMC9927230.

**6）　ミトコンドリア：太古の昔に共生した微生物（高野）**

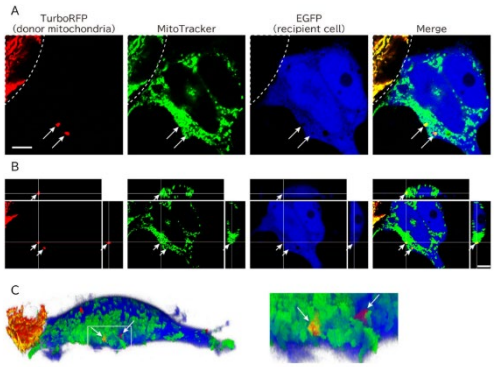
ミトコンドリア糖尿病（MD）は，一般に $\beta$ 細胞の遺伝子異常として分類される．主な病態は，ミトコンドリアの ATP 産生障害による膵臓 $\beta$ 細胞のインスリン分泌不全である．しかし，いくつかの報告では，MD の臨床的特徴として，インスリン抵抗性（IR）の存在に言及している．ミトコンドリア機能障害は IR を引き起こす重要な因子の一つであり，MD のもう一つの病態生理として IR に注目する必要がある．我々は本論文[1]で IR のインスリンシグナルと分子機構について概説し，次に，現在確認されている病原性ミトコンドリア DNA（mtDNA）変異について，MITOMAP データベースから概観した．糖尿病を引き起こす変異体は，ほとんどがミトコンドリアゲノムの



| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

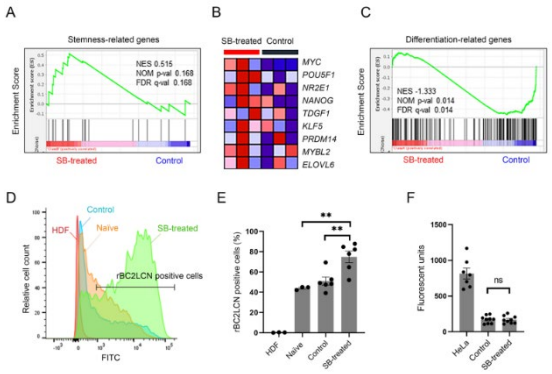


トランスファーRNA（tRNA）の点変異であった．第三に，最近報告された「tRNA モドパチー」につながるこれらの変異体に焦点を当て，糖尿病患者の臨床的特徴について概説した．最後に，mtDNA 変異による MD の病態生理を考察し，IR の発症の基礎となる可能性のあるメカニズムを探った．2 型糖尿病の病態の一部にミトコンドリア異常が関与することから，今後新たな創薬のターゲットとなる可能性がある．[1]




**ミトコンドリア輸送：**近年，細胞間ミトコンドリア移動が注目されている．健康な幹細胞からミトコンドリア機能障害を持つ細胞へ，ミトコンドリアを輸送する新たな幹細胞治療が開発できる可能性がある．我々は二重蛍光標識システムを用いてドナー細胞およびレシピエント細胞のミトコンドリアを染色し羊膜上皮細胞から TurboRFP 標識された健常なミトコンドリアが，ミトコンドリアが損傷したレシピエント細胞に正常に移植され，膜電位の変化を来しえることを明らかにした．ミトコンドリアは太古の昔に古細菌に近い我々の細胞に寄生した好気性菌に由来するが現在でもダイナミックな移送とある種の細胞間感染が生じることを明らかにした．[2]

**羊膜由来胎盤幹細胞の分化転換：**胎盤幹細胞の一種であるヒト羊膜上皮細胞（hAECs）は，幹細胞マーカー遺伝子を発現し，適切な培養条件下で 3 つの胚葉に分化することができる．hAECs は TGF-$\beta$ 依存性の上皮間葉転換（EMT）を起こすことが知られているが，EMT が hAECs の幹や分化に与える影響はまだ明らかにされていない．今回，我々は，hAECs が初代培養開始直後に EMT を起こすことを初めて確認した．RNA-seq による網羅的なトランスクリプトーム解析により，TGF-$\beta$ 依存性の EMT を抑制することで，hAECs の NANOG や POU5F1 などの幹性関連遺伝子の発現が維持されることがわかった．さらに，幹性の維持は hAECs の非腫瘍原性特性に影響を与えなかった．我々は，TGF-$\beta$ 依存性 EMT が hAECs の幹性に悪影響を及ぼすことを初めて示し，胎盤幹細胞の細胞プロセスに関する新しい知見を明らかにした．




1. Takano C, Ogawa E, Hayakawa S. Insulin Resistance in Mitochondrial Diabetes. Biomolecules. 2023 Jan 7;13(1):126. doi: 10.3390/biom13010126. PMID: 36671511; PMCID: PMC9855690.
2. Taiko I, Takano C, Nomoto M, Hayashida S, Kanemaru K, Miki T. Selection of red fluorescent protein for genetic labeling of mitochondria and intercellular transfer of viable mitochondria. Sci Rep. 2022 Nov 18;12(1):19841. doi: 10.1038/s41598-022-24297-0. PMID: 36400807; PMCID: PMC9674635.

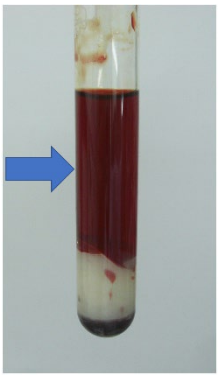
3. Takano C, Horie M, Taiko I, Trinh QD, Kanemaru K, Komine-Aizawa S, Hayakawa S, Miki T. Inhibition of Epithelial-Mesenchymal Transition Maintains Stemness in Human Amniotic Epithelial Cells. Stem Cell Rev Rep. 2022 Dec;18(8):3083-3091. doi: 10.1007/s12015-022-10420-1. Epub 2022 Aug 6. PMID: 35931939; PMCID: PMC9622541.

**7）　非定型インフルエンザ菌（NTHi）による突然死小児の解析　（高野）**

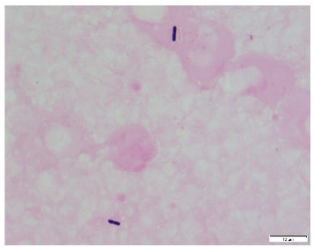
非定型インフルエンザ菌（NTHi）感染は致死的になることは少ないが，侵襲性 NTHi 感染症は世界的に増加している．我々は免疫グロブリン G2（IgG2）欠乏症が基礎にある 2 歳 7 ヶ月の男児小児において，侵襲性 NTHi 感染症による突然死を経験した．剖検の結果，諸臓器うっ血のみがみられ，組織学的には主要臓器の血管内に好中球が認められた．一方，微小膿瘍の形成は確認できなかった. 血液培養の結果, *Haemophilus Influenzae* が陽性であった．本症例は NTHi による菌血症とうつ伏せ寝による高熱を併発による窒息死と考えられた．本菌種は弱毒菌であるが免疫不全の小児にとって，突然死のリスクをもたらす可能性がある．

Abe Y, Takano C, Tie J, Isobe E, Ohirabaru A, Isahai I, Nishiyama H, Jike T, Masuda S, Okuda T. Sudden death of a child associated with invasive non-typeable Haemophilus influenzae infection with underlying $IgG_2$ subclass deficiency. Leg Med (Tokyo). 2023 May;62:102240. doi: 10.1016/j.legalmed.2023.102240. Epub 2023 Mar 13. PMID: 36958272.

**8）*Chlostridium perfringens(CP)*による菌血症と劇症型溶血の病態　（早川・須崎）**



CP による菌血症は，発症率は非常に低いものの，半数は重症化し死に至る．我々が経験した 6 症例を含む過去 50 年の 106 例の報告の解析から予後因子を解析した．劇症型溶血例は若く，男性に多い傾向があったが，分離菌の毒素型や遺伝子に差はなかった．Massive intravascular hemolysis （MIH）症例では，臨床分離菌の培養上清中の $\theta$-toxin レベルは，末梢血中の炎症性サイトカイン産生量に比例し，激しいサイトカインストームの発生が示唆された．MIH は進行が非常に早く予後も悪いため，迅速な診断と治療が必要である．しかし，十分な症例解析がなされていないため，信頼できる診断と治療の基準がまだ確立されていない．進化生物学的には重症で全身性の溶血は，細菌が赤血球から鉄の利用という利益を得る前に宿主を死に至らしめるため，進化的不適応と考えられる．

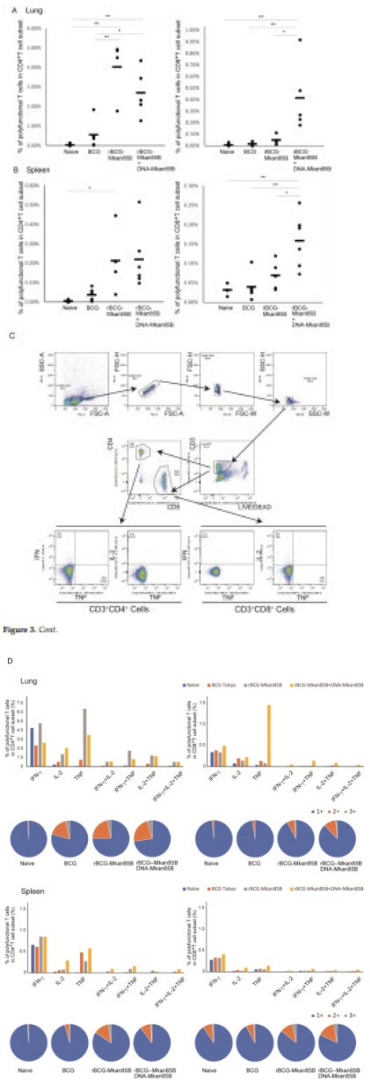


Suzaki A, Hayakawa S. Clinical and Microbiological Features of Fulminant Haemolysis Caused by *Clostridium perfringens* Bacteraemia: Unknown Pathogenesis. Microorganisms. 2023 Mar 23;11(4):824. doi: 10.3390/microorganisms11040824. PMID: 37110247; PMCID: PMC10143116.

**9）結核ならびに非結核性抗酸菌に対する新たなワクチン開発（相澤，早川）**

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】



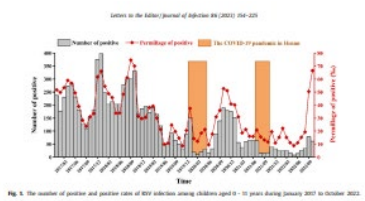
結核菌（*Mycobacterium tuberculosis:* Mtb）感染は，依然として世界的に大きな健康問題である．BCG ワクチンは結核予防のために最も広く用いられているワクチンであるが，その有効性は限定的である．我々は以前，*M. kansasii* の Ag85B タンパク質（Mkan85B）をコードする新しい組換え BCG（rBCG）ベースのワクチン（rBCG-Mkan85B と呼ぶ）を開発した．また，DNA ワクチンとして Ag85B 遺伝子を発現するプラスミド DNA（DNA-Mkan85B）を作製し，rBCG-Mkan85B 接種後に DNA-Mkan85B をブースト接種するプライム-ブーストの接種プロトコルを開発した．rBCG-Mkan85B/DNA-Mkan85B プライムブーストワクチン接種プロトコルは CB6F1 マウスにおいて，*M. kansasii* 感染防御に有効であった．本研究では，rBCG-Mkan85B/DNA-Mkan85B ワクチンの結核防御効果をマウスモデルを用いて検討した．CB6F1 マウスに既存の BCG，もしくは rBCG-Mkan85B 単独接種，rBCG-Mkan85B/DNA-Mkan85B プライムブーストプロトコル接種し，6 週間後に Mtb Erdman 株を吸入感染させた．BCG および rBCG-Mkan85B 単独接種と比較して，rBCG-Mkan85B/DNA-Mkan85B プライムブーストワクチン接種は，肺のコロニー形成単位（CFU）数を著しく減少させた．さらに，rBCG-Mkan85B/DNA-Mkan85B プライムブーストワクチン接種は，抗原特異的な CD4+および CD8+ T 細胞を誘導した．rBCG-Mkan85B/DNA-Mkan85B プライムブースト接種は新たな結核ワクチン候補となり得る．さらに，組換え BCG の手法は結核に限らず，新たなワクチン開発のストラテジーとして有効である．

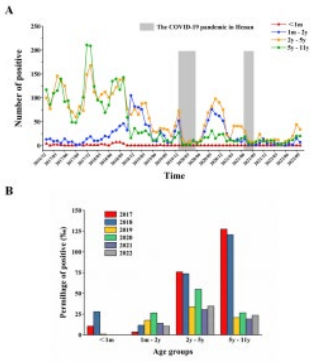
Komine-Aizawa S, Mizuno S, Kawano A, Hayakawa S, Matsuo K, Honda M. The Induction of Antigen 85B-Specific CD8⁺ T Cells by Recombinant BCG Protects against Mycobacterial Infection in Mice. Int J Mol Sci. 2023 Jan 4;24(2):966. doi: 10.3390/ijms24020966. PMID: 36674484; PMCID: PMC9862620.

**10）下痢症ウイルスの分子疫学（牛島・沖津・Hoque, 早川）タイ王国，バングラデシュとの国際共同研究**

**小児下痢症ウイルスの流行**　世界の 5 歳以下の乳幼児の死亡原因として急性胃腸炎（下痢症）は 2008 年の 15%（134 万人）から，2016 年には 12.7%（44.6 万人）と減少しているが，まだ死亡原因の 5 番目である．急性胃腸炎の原因病原体は原虫，細菌，ウイルスなど多岐にわたるが，なかでも抗菌薬が無効であるウイルスは脅威であり，ロタウイルスが最もよく知られて

いる．日本では急性胃腸炎で死亡する小児は少ないものの罹患者数は多く，乳幼児やその家庭における負担は大きい．病因ウイルスとしてはロタウイルス以外に，ノロウイルス GI，GⅡ，アデノウイルス，サポウイルス，アストロウイルスなどがあげられ，さらに他の多様なウイルスも病因となり，患者の症状から病因ウイルスを特定することは難しい．ロタウイルスワクチンが日本でも 2011 年から任意接種として導入され，年々接種率が上昇するとともにロタウイルスの検出率が低下している．これまで我々は群馬県の一小児科外来を訪れた急性胃腸炎の患者から得た便検体からウイルスを同定し，流行ウイルスの解析を行ってきた．2020 年春からの COVID-19 流行による感染対策よって小児の急性胃腸炎患者数も減少してきたが，2021 年以降は再度上昇している．そこで，COVID-19 流行前と現在（COVID-19 パンデミック下）の急性胃腸炎の原因ウイルスの種類，頻度，遺伝子型などを比較することを本研究の目的とした．2014-2021 年の 7 年間の 2841 検体においてアストロウイルス(HAstV)の検出を行った．以前よりも知られていた classic HAstV 以外に MLB と VA という遺伝子の配列に大きく違いがある HAstV があることがわかっているが，日本ではこれらに関する疫学調査はこれまで 1 報のみであった．そこでこの研究ではすべてのタイプを検出できるプライマーを用いて検出した．その結果，世界での多くの報告では classic HAstV が MLB と VA に比べて多いとされているが，日本では classic HAstV に比べ，MLB と VA が多いことがわかった．これは過去の 1 報と同じであった．すなわち検出された 130 検体（4.6%）のうち，classic HAstV は 56 検体で，MLB と VA は合わせて 74 検体であった．MLB1 が最も多く（45.4%），classic HAstV の中では HAstV1 が最も多かった．Classic HAstV の中で HAstV1 が最も多いという結果は日本および世界でのこれまでの報告と一致する．まれな MLB3 が日本の小児の検体から初めて検出された．3 検体の HAstV3 が検出され，組換え体であることがわかった．[1]






**下水中の下痢症ウイルスの解析**

コロナウイルス感染症-2019（COVID-19）が世界的に大流行する中，社会との距離を置く，手指衛生の強化，マスク着用，在宅勤務，学校閉鎖などの非薬事介入（NPI）は，COVID-19 のみならず，あらゆる年齢の人々の急性胃腸炎（AGE）を含む他の多くの感染症を減らすために有効である．しかしこれらの感染症が本当に地域社会で減少しているのかどうかの研究は少ない．地域内の感染動向を追跡するための強力な公衆衛生監視ツールと考えられている廃水ベースの疫学（WBE）を用いた検討を行った．本研究では，2018 年 8 月から 2022 年 3 月までほぼ毎月，日本の関西圏の下水処理場から生の下水道水（SW）を採取した．サンプルは住宅，学校，市場，農場，病院から来たと思われる約 245,000 人の黒水（トイレからの排水）と中水（トイレを除くすべての生活排水）の両方を含む．SW 中のウイルスは，ポリエチレングリコール（PEG）沈殿法により濃縮し，PCR による検討を行った．その結果，ほとんどの SW において複数の下痢症

ウイルスを検出した．配列に基づく解析により，遺伝子型と進化的関係を評価した．ロタウイルス A（RVA），ノロウイルス（NoV）GI および GII，アストロウイルス（AstV）などの主要な AGE ウイルスは，COVID-19 パンデミック時に SW で急増（10～20%）したが，サポウイルス（SV），アデノウイルス（AdV），エンテロウイルス（EV）などの AGE ウイルスはわずかに低下（3～10%）した．冬場も高い有病率がみられた．重要なことは，RVA の G1，G3，NoV の GI.1，GII.2，SV の GI.1，AstV の MLB1，AdV の F41 など，いくつかの株がパンデミックの間に出現または増加したことで，遺伝子型の変化という通常の現象がこの時期も活発だった．全体として最も多く検出されたウイルスは SV（74.4%）で，RVA（61.5%），AstV（59%），NoV GI（59%），NoV GII（56.4%），EV（48.7%），AdV（46.2%） と続く．最近，日本人小児における SV 感染の増加傾向が報告されたが，SV の検出率が高いことは，この地域にとって特に問題と考えられた．

**新型ロタウイルスの解析：**2017 年以降，ウシ型に類似した G8 遺伝子型を持つ珍しい DS-1 様グループ間組換えロタウイルス（DS-1 様 G8P［8］ロタウイルス）が出現し，数カ国で急速に拡散している．本研究では，日本における 2017 年および 2019 年のヒトロタウイルス G8P [8]7 株の塩基配列についてウイルスメタゲノミクスを用いて決定した．ゲノム座（VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5 遺伝子）を，G8-P [8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 として定義した．遺伝子解析の結果，2017 年と 2019 年の日本産 G8P［8］ロタウイルス株は，同じ系統の G8-5 と P［8］-3 に分類されるが，系統的には別々の枝に位置し，異なるクラスターに属していることが判明した．本研究は，日本における新興ロタウイルス G8P [8]の進化に関する最初の報告である [4].

1. Okitsu S, Khamrin P, Hikita T, Yuko Shimizu-Onda, Thongprachum A, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. Molecular epidemiology of classic, MLB, and VA astroviruses in children with acute gastroenteritis, 2014-2021: Emergence of MLB3 strain in Japan. Microbiol Spectrum in press. http://doi.org/10.1128/spectrum.00700-23

2. Hoque SA, Kotaki T, Pham NTK, Onda Y, Okitsu S, Sato S, Yuki Y, Kobayashi T, Maneekarn N, Kiyono H, Hayakawa S, Ushijima H. Abundance of viral gastroenteritis before and after the emergence of COVID-19: Molecular evidence on wastewater. J Infect. 2023 Feb;86(2):154-225. doi: 10.1016/j.jinf.2022.11.007. Epub 2022 Nov 17. PMID: 36402208; PMCID: PMC9671530.

3. Hoque SA, Kotaki T, Pham NTK, Onda Y, Okitsu S, Sato S, Yuki Y, Kobayashi T, Maneekarn N, Kiyono H, Hayakawa S, Ushijima H. Genotype Diversity of Enteric Viruses in Wastewater Amid the COVID-19 Pandemic. Food Environ Virol. 2023 Apr 14:1–16. doi: 10.1007/s12560-023-09553-4. Epub ahead of print. PMID: 37058225; PMCID: PMC10103036.

4. Phan T, Kobayashi M, Nagasawa K, Hatazawa R, Thi Kim Pham N, Miyashita H, Komoto S, Tajima T, Baba T, Okitsu S, Khamrin P, Maneekarn N, Kimura H, Kobayashi T, Hayakawa S, Ushijima H. Whole genome sequencing and evolutionary analysis of G8P [8] rotaviruses emerging in Japan. Virusdisease. 2022 Jun;33(2):215-218. doi: 10.1007/s13337-022-00765-z. Epub 2022 Apr 25. PMID: 35991696; PMCID: PMC9381655.

**11）口腔を介した性感染症の進化生物学的背景　（早川・香久山）**

口腔性交はクラミジアや淋菌感染症，梅毒に加え，単純ヘルペスや HPV など様々な性感染症の原因となる．文化や民族において広くみられる行動であるが，他の霊長類では極めてまれな性行動である．我々はその進化的要因として口腔と局所の接触によりヒトに特異的な乳酸菌優位の膣環境を検出し，繁殖成功度を高めるという進化的要因があると考えた．これはおそらく数万年前に *Homo sapiens* が進化した時期に成立し，ヒトとヒト特異的な淋菌の共進化に関与する．

Satoshi Hayakawa, Ame Kaguyama,　Evolution of male-to-female oral sex as a detection tool of bacterial vaginosis and subsequent infertility,　Medical Hypotheses,169,2022,110985, ISSN 0306-9877,https://doi.org/10.1016/j.mehy.2022.110985.

**川名　敬（医学部）：**

**1）新型コロナウイルス感染妊婦の管理と病態に関する検討**

当院で扱った 61 例の新型コロナウイルス感染妊婦のうち，分娩時に感染状態であった 26 例について検討した．4 例は早産であった．26 例のうち，重症 1 例，中等症 II 3 例，軽症 1 例であり，いずれもデルタ株感染であった．その他は無症候性であった．胎盤感染，母子感染の可能性を検討するため，分娩時に感染状態であった 12 例の妊婦から同意を得て胎盤を回収した（全例，帝王切開分娩）．早川ラボにて胎盤を用いた SARS-CoV2 の感染病理を検討した．

**2）HPV18 型による腺癌に特異な発癌メカニズムの検討**

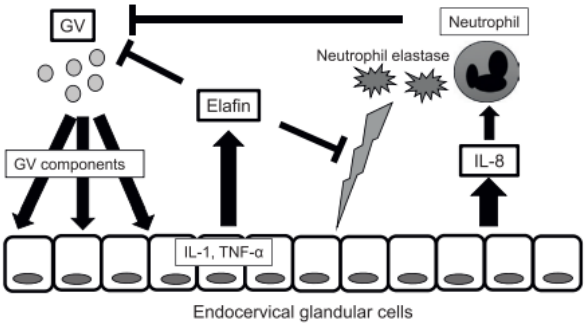
HPV18 型による頸癌は腺癌になりやすく，かつ若年発症かつ予後不良である．頸癌の発生母地である Squamo-columnar junction (SCJ)が幹細胞の特性を持つことを利用して，我々は iPS 細胞から分化誘導した人工的な SCJ 細胞を作製し，HPV18 E6/E7 を導入した iRC 細胞をマウスに接種したところ腺系腫瘍（上皮内腺癌）が形成された．そのマウス腫瘍の single cell RNA seq とマイクロダイジェクションによる RNA seq を行った．形態学的に高分化腺癌となる腺系腫瘍のマイクロダイジェクションで得られた高発現遺伝子群が，scRNAseq で孤立したクラスターを形成していることがわかり，その遺伝子群は幹細胞マーカーが特徴的であった．HPV18 型腺癌では幹細胞様の特徴が保持されていることが示唆された．

**論文投稿中**

**3）細菌性腟症関連菌の子宮頸部に与える影響の検討**

早産の原因の一つとされる細菌性腟症関連菌である Gardnerella vaginalis が子宮頸に与える影響を検討したところ，切迫早産妊婦の入院時頸腟分泌物では細菌性腟症と診断された群におい

て有意に好中球エラスターゼ濃度が高かった．また in vitro の検討では G. vaginalis の培養上清が子宮頸管腺上皮細胞からの IL-8 と Elafin の産生を促進し，子宮頸部の粘膜バリア機能に影響を与える可能性が示唆された．




**論文発表　：**

**Pathological roles of antimicrobial peptides and pro-inflammatory factors secreted from the cervical epithelium in Gardnerella vaginalis-abundant vaginal flora in pregnancy. Matsuda E, Takada K, Kobayashi O, Nakajima T, Ikeda Y, Asai-Sato M, Kawakami K, Komatsu A, Chishima F, Komine-Aizawa S, Hayakawa S, Kawana K. J Reprod Immunol. 2023 Mar;156:103797.**

**関　みつ子（医学部，明海大学歯学部）**

**①　小児歯科排水からの SARS-CoV-2 検出**

背景・目的：我が国では，COVID-19 の二類から五類感染症への見直しがなされ，社会情勢も変化する中, 小児歯科外来においても, ウィズコロナ時代の新たな診療体制構築が求められている．他方，小児の COVID-19 は未だ増加傾向にあり，今後もまれに生じる重症例や，小児からの感染拡大が危惧されるが，無症状から軽症がほとんどの小児 COVID-19 患者の感染実態，特に不顕性感染実態については，未だ不明確である．その解決法として，小児歯科臨床の排水から SARS-CoV-2 の検出を行い，小児の不顕性感染の実態を明らかにすることを目的とした．方法：2021 年から 2022 年の約 15 か月間に渡り，明海大学病院小児歯科外来の排水を週 1 回収集し，歯科排水からの SARS-CoV-2 の RNA 検出を試みた．結果：歯科排水からの SARS-CoV-2 の RNA 検出に世界で初めて成功した．検出結果と地域流行状況との関連性も示唆された．

**（論文準備中）**

**②A new method to detect variants of SARS-CoV-2 using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with a bioluminescent assay in real time (RT-LAMP-BART)**

背景・目的：　SARS-CoV-2 の 3 主要変異株（アルファ，デルタ，およびオミクロン）は，それぞれ *S* 遺伝子に N501Y，L452R，および Q493R/Q498R 変異を有する． COVID-19 制御には，SARS-CoV-2 だけでなく，その変異株も迅速かつ確実に検出する必要がある．我々は RT-LAMP 法と生物発光アッセイ（BART 法）を組み合わせて N501Y および Q493R/Q498R 変異の検出法を開発した. 方法: N501Y と Q493R/Q498R を検出するための LAMP プライマーとペプチド核酸プローブを設計し，特異性と感度および標的 RNA をスパイクした臨床サンプル（鼻咽頭スワブおよび唾液）を使用して開発された方法を評価した. 結果: RT-LAMP-BART 法は，N501Y と Q493R/Q498R を正しく識別し，30 分以内に，最大 100 ～ 200 コピーの標的遺伝子を検出した． 他方，real-time RT-PCR 法は，130 分を必要とし，感度は最大 500～3,000 コピーで，驚いたことにオミクロン株の N501Y 変異を検出できなかった．臨床検体に含まれる

反応阻害物質による影響も，RT-LAMP-BART 法は real-time RT-PCR 法に比較して軽度であった．新しい RT-LAMP-BART アッセイは，特異性が高く，我々が使用した従来の real-time RT-PCR 法よりも感度が高い． 新しいアッセイは，簡易・安価・迅速であり，SARS-CoV-2 の VOC 株（Variant of Concern）を特定するに有用である．**（論文投稿中）**

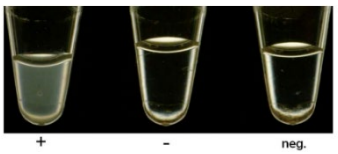
**③グラム陰性菌における抗菌薬遺伝子の迅速検出法.（韓国ハンヤン大学, 明海大学との共同研究）**

カルバペネマーゼやメタロ-β-ラクタマーゼを保有するグラム陰性菌による院内感染症の治療において，抗菌薬感受性の迅速な評価は重要である．我々は，4 種類の β-ラクタマーゼ遺伝子（Bla KPC，Bla NDM-1，Bla IMP-1 グループ，Bla VIM）に対するループ媒介等温増幅法（LAMP）ベースのアッセイを開発した．6 種類の β-ラクタマーゼ遺伝子を保有する 8 種類の基準菌株（*Klebsiella pneumoniae*，*Escherichia coli*，*Pseudomonas aeruginosa*，*Acinetobacter bereziniae*）を用いて，アッセイを評価した．次世代シーケンサー（NGS）により完全に遺伝的背景が明らかになった緑膿菌臨床分離株 47 株を含む，合計 55 株のグラム陰性細菌株を用いて，LAMP アッセイを評価した．その結果を従来の PCR の結果と比較した．LAMP アッセイでは，従来の PCR では 10～$10^4$ コピーの遺伝子が検出されたのに対し，10～100 コピーという少ないコピー数で検出することができた．LAMP アッセイでは，DNA を混入した尿，喀痰，血液検体において，精製 DNA を鋳型として用いた場合と同程度の感度で 4 つの β-ラクタマーゼ遺伝子を検出した．一方，DNA を混入した臨床検体では，PCR の感度は 1～100 倍低かった．したがって，LAMP 法は 4 種類の β-ラクタマーゼを検出するための適切なツールであることが証明された．

TABLE 4 Detection limits of the PCR and LAMP assays used to detect $bla_{KPC}$, $bla_{NDM-1}$, $bla_{IMP-1}$ and $bla_{VIM}$ in DNA-spiked specimens.

| | Detection limit | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $bla_{KPC}$ | | $bla_{NDM-1}$ | | $bla_{IMP-1}$ | | $bla_{VIM}$ | |
| | PCR | LAMP | PCR | LAMP | PCR | LAMP | PCR | LAMP |
| Purified DNA | $10^4$ copies[a] | $10^2$ | $10^3$ | $10^2$ | $10^2$ | $10^2$ | 10 | 10 |
| DNA spiked specimens | | | | | | | | |
| Urine[b] | $10^4$ | $10^2$ | $10^4$ | $10^2$ | $10^2$ | $10^2$ | $10^2$ | 10 |
| Sputum[c] | $10^4$ | $10^2$ | $10^4$ | $10^2$ | $10^2$ | $10^2$ | $10^2$ | 10 |
| Blood[c] | $10^4$ | $10^2$ | $10^4$ | $10^2$ | $10^4$ | $10^2$ | $10^3$ | 10 |

[a]Amount of DNA per reaction;
[b]Supernatant data obtained after boiling and centrifugation;
[c]Samples prepared via Loopamp™ PURE DNA extraction kit (Eiken Chemical Co.).




Kim EJ, Lee J, Yoon Y, Lee D, Baek Y, Takano C, Sakai J, Iijima T, Kanamori D, Gardner H, McLaughlin RE, Kilgore PE, Nakamura A, Ogihara T, Hayakawa S, Hoshino T, Kim DW, Seki M. Front Cell Infect Microbiol. 2023 Jan 12;12:1000445. doi: 10.3389/fcimb.2022.1000445. eCollection 2022.PMID: 36710975

**佐藤真伍・丸山総一（(生物資源科学部)：人獣共通感染症である *Bartonella quintana* に関する分子遺伝学的解析**

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

令和 4 年度は，イスラエルおよびアフリカ東部の 11 名の心内膜炎患者から分離された *Bartonella quintana* について Multi-locus sequence typing 法を用いて Sequence type（ST）を決定し，既報のヒト患者由来株（STs 1~7），アカゲザル，カニイクイザル，ニホンザル由来株（STs 8~22）とともに系統解析を行った．その結果，イスラエルおよびアフリカ東部には新たな STs 23～27 が分布していることが明らかになるとともに，ヒト由来の ST26 は祖先型の ST である可能性が示された(図 1)．今後，ヒト由来株とサル由来株の全ゲノム配列情報を用いた比較ゲノム解析を行い，*B. quintana* の進化とともに獲得あるいは欠失した病原関連遺伝子を明らかにする予定である．

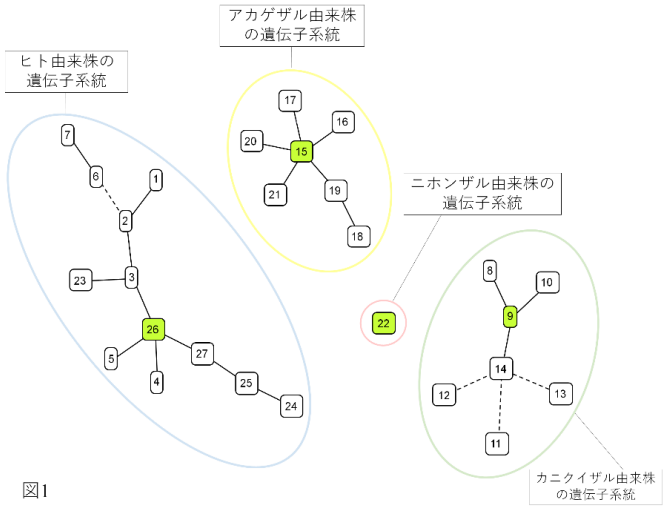



図1

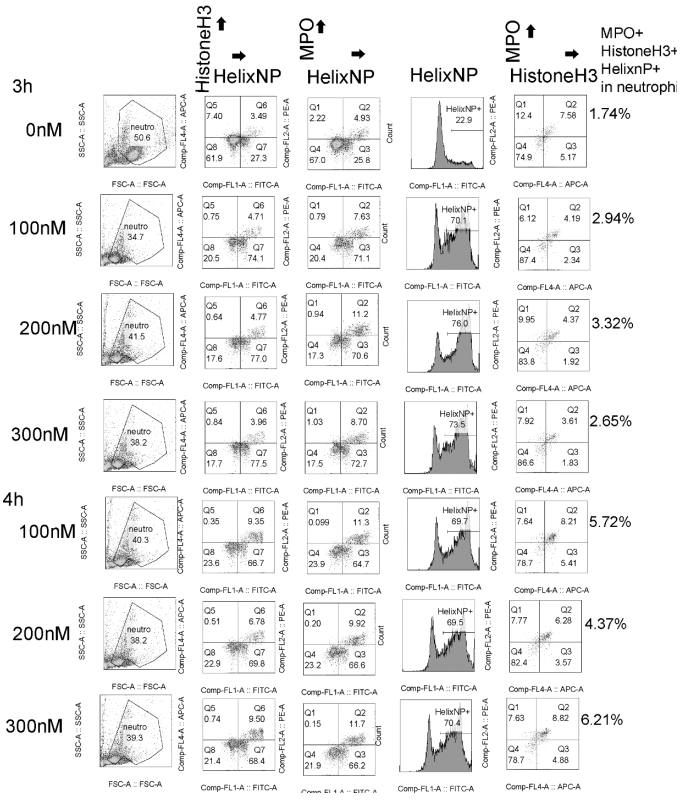
Shingo Sato , Lev Shapira, Diana Tasher, Soichi Maruyama, Michael Giladi

Molecular epidemiology of Bartonella quintana endocarditis in patients from Israel and Eastern Africa BMC Infect Dis. 2023 Mar 7;23(1):142. doi: 10.1186/s12879-023-08099-x.

**泉福英信（松戸歯学部）**

**好中球のネット - シスによる SARS-CoV-2 感染防御機構の検討**

COVID-19 患者の予後を規定する因子の一つに NETs（neutrophil extracellular traps）の過剰生成がある．NETs は好中球が 特定の刺激に反応して細胞外へ放出する核成分から成る網目状構造物であり，その強い殺菌作用は自然免疫による細菌およびウイルス感染防御機構として重要である．歯科領域においてはバイオフィルムによる歯周病発症関与することが報告されている．NETs は生体内に侵入したウイルス・微生物に対する感染防御の役割を果たす一方，過剰産生は組織を傷害する．興味深いことに唾液中のラクトフェリンは NETs の過剰活性化を制御するが，食品にも含まれるため経口投与が可能である．そこで分担研究として,これらの生体分子によるネットワークの解明から，病原体に対する自然免疫による先制制御法を確立し，SARS-CoV-2 感染阻害と抗微生薬耐性なら



びにワクチンエスケープ変異発生回避を図ることを目的とした. 7.5%カゼイン溶液 1mL をマウス腹腔に投与し 24 時間後に腹腔浸出細胞と骨髄を回収する．Percoll（63%）を用いて好中球を濃縮分離．$1\times10^6$ 個/mL の濃度で培養プレートに播種する．37℃，5%$CO_2$ で 30 分間プレ培養した後に，100nM の PMA を添加し，4 時間培養しネトーシスを誘導した．マウスの腹腔浸出細胞から分離した好中球濃縮分画を 10，50，100nM の PMA で 4 時間処理し，ネトーシスのマーカーの発現をフローサイトメーターで分析した. ネトーシスを起こした好中球の表層マーカーとしては DNA，抗菌物質である myeloperoxidase（MPO），シトルリン化ヒストン H3 などが知られている．DNA に結合する HelixNPGreen，MPO に結合する PE 標識抗 MPO 抗体，APC 標識抗ヒストン H3 抗体（シトルリン化ヒストン H3 抗体では実施していない）を用いて，フローサイトメーターにてネット-シス細胞について検討した．その結果，マウス腹腔浸出細胞から Percoll（63%）を用いて好中球を濃縮分離し，$1\times10^6$ 個/mL の濃度で培養プレートに播種，37℃，5%$CO_2$ で 30 分間プレ培養した後に，100nM の PMA を用い 4 時間処理した場合に，ネトーシスのマーカーである，細胞外 DNA，MPO，ヒストン H3 が最も高い割合でフローサイトメーターで検出できることが示された

1. Junichi Tanaka, Hidenobu Senpuku, Miho Ogawa, Koki Takamatsu, Takashi Watanabe, Yo Mabuchi, Shiro Nakamura, Shintaro Ohnuma, Shoko Ishida, Rika Yasuhara, Kyoji Urayama, Tomohiko Sadaoka, Takashi Takaki, Tatsuo Shirota, Toshikazu Shimane, Tomio Inoue, Thomas N. Sato, Takayoshi Sakai, Takashi Tsuji, Ichiro Saito, Kenji Mishima. Human salivary gland organoids generated from pluripotent stem cell model SARS-CoV-2 infection and replication. Nature Cell Biology, 2022, 24(11):1595-1605.
2. Tomoyo Nakamura, Hideo Yonezawa, Taketo Kawarai, Naoki Narisawa, and Hidenobu Senpuku. Inhibitory effect of the combination of xylitol and funoran on *Streptococcus mutans* biofilm formation on the uncoated surface. Archives of Microbiology, 2022, 204(12):723.
3. Shinichi Tabe, Yohei Nakayama, Ryoki Kobayashi, Kstsunori Oyama, Daisuke Kitano, Jun Ogihara, Hidenobu Senpuku, Yorimasa Ogata. Association between dietary habit and clinical parameters in patients with chronic periodontitis undergoing supportive periodontal therapy. Nutrients, 2022, 14(23)4993.
4. Yohei Nakayama, Shinichi Tabe, Arisa Yamaguchi, Yuto Tsuruya, Ryoki Kobayashi, Kstsunori Oyama, Daisuke Kitano, Keisuke Kojima, Rikitake Kogawa, Yasuo Okumura, Jun Ogihara, Hidenobu Senpuku, Yorimasa Ogata. Identification of Nutritional Factors to Evaluate Periodontal Clinical Parameters in Patients with Systemic Diseases. Nutrients. 2023 11;15(2):365.

**武市収（歯学部）**

**歯根肉芽腫中の Epstein-Barr ウイルス感染がサイトカインの発現に及ぼす影響**

我々は, Epstein-Barr ウイルス（EBV）が歯根肉芽腫組織中の B 細胞に潜伏感染し，難治性根尖性歯周炎関連細菌である Fusobacterium nucleatum が EBV を再活性化することなどを明らかにしてきた．そこで本研究では，再活性化した EBV が根尖病変の歯槽骨吸収に及ぼす影響を検討する目的で, IL-1$\beta$，IL-6 および RANKL の発現誘導能を検索した.

患者から根尖病変組織を摘出し，二分割したのち，それぞれパラフィン切片と凍結切片の作製に供試した．ヘマトキシリン・エオジン染色後，歯根肉芽腫と病理診断された組織のみを本研

究に用いた．3 重蛍光抗体染色法を行い, B 細胞による ZEBRA，IL-1β，IL-6 の局在を検索した．また，凍結標本から total RNA を抽出し, Real-time PCR 法を用いて BZLF-1，IL-1β，IL-6 の遺伝子発現量を検索した．また，コントロールとして完全埋伏智歯抜去の際に採取した健常歯肉を用い，根尖病変組織と同様の検索を行い，比較検討した．

その結果，歯根肉芽種を用いて 3 重蛍光抗体染色法を行った結果, ZEBRA と IL-1β, ZEBRA と IL-6，および ZEBRA と RANKL において共発現を認めたが，健常歯肉組織からの発現は認められなかった．Real-time PCR 法を用いた歯根肉芽腫組織の BZLF-1 mRNA 発現量は，健常歯肉と比較して有意に高い値を示した（Mann Whitney U test）．また, BZLF-1 と IL-1β, BZLF-1 と IL-6，および BZLF-1 と RANKL のmRNA 発現量は，ピアソンの相関係数を用いた統計分析により全て正の相関性を示した．以上の結果から，再活性化した EBV は歯根肉芽種組織において IL-1β, IL-6，および RANKL 発現を誘導する可能性が示唆された．

**論文執筆中**

**蜂巣　浩生（理工学部）感染に強い建築と都市計画：**

建築単体及び都市計画のそれぞれの視点から感染症の拡大に対抗するための方策について調査・検討を行った．

◆建築単体での対策

建築は人々に快適性だけでなく，安全で衛生的な環境を提供する役割を担っている．しかし，ひとたび感染症が流行すると建築物が感染を拡大させる場所となってしまう場合がある．よって，これからの建築では病原体の侵入を完全に防ぐことができないまでも，病原体の拡散を抑え，感染リスクを低減させる平面計画，設備計画，抗菌・抗ウイルス素材・建材の活用が必須になってくる．住宅建築は元々家庭内感染を想定していないため最も対応が難しい．一般的な平面計画では病原体が容易に持ち込まれてしまう可能性が高いため，抗菌・抗ウイルス素材・建材の使用だけでは不十分である．玄関付近に手洗い場や抗菌クローゼットの設置を設計の基本とすることやゾーニング，動線に感染症対策を織り込んでおく考え方が必要になると考えられる．ある程度の規模を持つ施設では，空調換気設備で室間の気圧を制御して病原体の侵入を抑制することができる．施設規模に余裕が無い場合にはクリーンゲートなどの設置で対応することもできると考えられる．また空調は床吹出しとして気流の方向を制御することも重要である．大規模病院においては平時の動線を非常時には迅速に部分的・物理的に閉鎖し，一般患者と感染症患者を分離できるような平面計画・断面計画・建築設備を取り入れていく必要がある．住宅は元々家庭内感染を想定した計画が施されていないため最も対応が難しいと考えられる．

◆都市計画的対策

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

新型コロナ感染症により医療崩壊寸前にまで至ったことは衝撃的であった．このような事態を回避するためには，各医療施設間での機能の分担・連携の推進や，地域全体で切れ目なく必要な医療を提供できる野戦病院の効果的な設置が必要になると考える．野戦病院設置場所は，自然災害時の安全性や道路交通網・路線図，人口分布を考慮し，二次保険医療圏を基本とすることが妥当と考える．東京都を例に 23 区内と 23 区外，島しょ部について野戦病院の候補地域を検討したが，他の地域における都市部とその郊外や農村部･山間部など人口の粗密に応じて応用ができるものと考える．全国に適用させる際には，地域ごとの二次保健医療圏や特定機能病院，地域医療支援病院の位置関係，自然災害時のハザードレベルなどの地理的分析に当てはめていくことが重要であると考えられ，都市計画的な対策の一助になるものと期待できる．　　**論文執筆中**

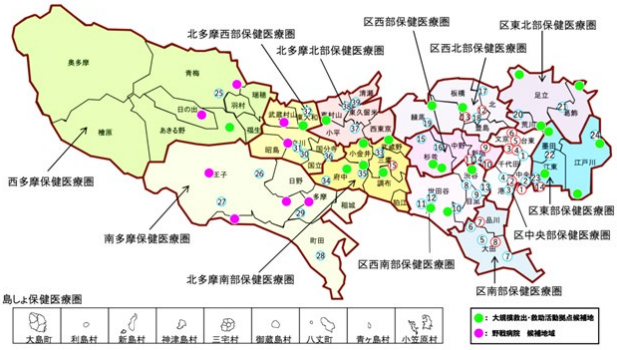



図　東京都の二次保健医療圏及び医療施設の配置と
野戦病院・大規模救助活動拠点候補地

**佐藤秀一　（歯学部）**

**１）歯周病原菌 *F. nucleatum* が肺のバリア形成と機能に及ぼす影響**

歯周病が呼吸器の炎症，組織破壊を進行する上で *F. nucleatum* が呼吸器のバリア機能を破壊するのではないかと推察し，気管支上皮細胞とマウスを用いた実験を行なった．
その結果，*F. nucleatum* は時間及び濃度依存的に気管支上皮細胞における経上皮電気抵抗値(TER)を低下させるとともに，実際にデキストランの透過性も促進されたことから，*F. nucleatum* により上皮細胞のバリア破壊が起こっていることが解った．次に，マウスに *F. nucleatum* を誤嚥させた後，デキストランを投与することで肺におけるバリア破壊を検討した．その結果，マウスにおいても *F. nucleatum* により血清中のデキストランが検知されるとともに，肺胞切片において肺胞間距離の増加が認められたことから，歯周病菌の誤嚥により肺胞のバリア破壊が起こっていることが明らかとなった（論文作成中）．

**２）歯周病原菌 *F. nucleatum* 刺激は TMPRSS2 の発現を誘導する**

呼吸器細胞株を *F.nucleatum* 培養上清により刺激した．その結果，用量依存的に TMPRSS2 の遺伝子発現が増加することを認めた．さらに，ウエスタンブロットによりタンパク質の増加も認めた．つぎに，*F.nucleatum* 培養上清が誘導する TMPRSS2 発現に関わるシグナル伝達経路を検索するため，MAPK 系の阻害剤，及び NF-κB 阻害剤 BAY11-7082 を用いて検討した．その結果，NF-κB 阻害剤のみ *F.nucleatum* が誘導する TMPRSS2 の発現を抑制することを認めた（論文作成中）．

1.　Yokoe S, Hasuike A, Watanabe N, Tanaka H, Karahashi H, Wakuda S, Takeichi O, Kawato T,

Takai H, Ogata Y, Sato S, Imai K. (2022) Epstein-Barr Virus Promotes the Production of Inflammatory Cytokines in Gingival Fibroblasts and RANKL-Induced Osteoclast Differentiation in RAW264.7 Cells. Int J Mol Sci., 23(2), 809.

2. Imai K, Iinuma T, Sato S. (2021) Relationship between the oral cavity and respiratory diseases: Aspiration of oral bacteria possibly contributes to the progression of lower airway inflammation. Jap. Dent. Sci. Rev. 57, 224-230.

**福田充（危機管理学部）**

**COVID-19 に関する意識調査**

2023 年 1 月 17 日から 19 日にかけて，日本国籍を有する男女 1000 名を対象とした新型コロナウイルス感染症に関する意識調査をインターネット・オンライン上で実施した．結果は回答者がマスク着用や手洗いうがい，アルコール消毒などの基本的な予防行動をとっていたこと，そして感染症に関するリスク認知やリスク不安が高く，ワクチンに関するリスク認知やリスク不安が低い傾向にあったことが明らかとなった．加えて，政治行政に対する評価では，ワクチン接種関連の対策が評価されており，その他の予防抑止策は評価されていなかった．

**我国の妊婦におけるワクチン情報の収集（福田，山田，相澤）**

妊婦が COVID-19 に関する情報をどこから収集し，行動にどのように影響するかは重要な問題である. 実際, インフォデミックが妊婦におけるワクチン忌避の原因となっている可能性がある. 本研究は, 妊婦が COVID-19 および COVID-19 ワクチン接種に関する情報をどのように収集しているかを調査することを目的とした. 2021 年 10 月 5 日から 11 月 22 日の間に妊婦を対象にオンラインアンケート調査を実施した. 1179 名の不十分な回答を除外した上で，4962 名の回答を得た．年齢，職業，感染リスク不安が，情報を得るためのメディアの選択に影響を与えていることが判明した. 年齢が高い妊婦, 医療従事者, 公務員, 教育関係者は医療専門サイトを利用する傾向があり，主婦はマスメディア，ソーシャルメディア，科学的根拠が不確かな情報源を利用する傾向があった．さらに，妊娠週数や妊娠方法（自然妊娠か生殖補助医療か）がメディアの選択に影響を与えた．妊婦が COVID-19 の情報にアクセスしやすいかどうかは，社会的背景や妊娠の状態によって決定され



た．医療関係者や情報を提供する側は，妊婦とその家族が適切な情報を容易に入手できるよう，今後も努力を続けていく必要がある．

Komine-Aizawa S, Yamada N, Haruyama Y, Deguchi M, Fukuda M, Kawana K, Kobashi G, Miyagi E, Yamada H, Sugiyama T, Hayakawa S. The Factors Influencing Pregnant Women's Selection of Media Sources to Obtain Information on COVID-19 in Japan in 2021. Vaccines (Basel). 2023 Apr 6;11(4):805. doi: 10.3390/vaccines11040805. PMID: 37112717; PMCID: PMC10143418.

**森岡一朗（医学部）：新型コロナウイルス感染妊婦から出生した新生児の診療・管理方法および社会的影響に関する調査**　全国の小児科標榜 894 施設を対象に第 6 波時点での SARS-CoV-2 感染妊婦から出生した新生児の診療・管理方法および，その社会的影響を調べた．SARS-CoV-2 感染新生児は極めて少ない状況であることが明らかとなった（29/2,373 人, 1.2%）．その一方，病院全体の感染管理により，本来の新生児医療にとって不可欠な面会や母乳育児，母子同室が大きく制限されている現状が続いていた．このことは，両親と児の愛着形成や両親の心理面に影響を及ぼす可能性があるので，注意を要する

森岡一朗ら，日本小児科学会雑誌，127（3），519-529，2023

**木下浩作，高山忠輝，権寧博　（医学部）：中等症・重症 COVID-19 重症肺炎に対する治療プロトコール　COVID-19 肺炎に対する薬物療法の効果**

COVID-19 肺炎は，集中治療室での治療によっても死亡率が高く，死亡率は 7.5%に達する．特に extracorporeal membrane oxygenation（ECMO）開始後 90 日以内の院内死亡率は 37.4%とされるが，重症化を防止するため確立した治療プルトコルはなく，各施設で対応している現状である．中等症から重症化する症例の呼吸障害の悪化を防止し，呼吸障害の進展に応じた新たな治療戦略を構築する必要がある．中等症以上の COVID-19 肺炎に対して数々の治療法が報告され，COVID-19 肺炎に対する高容量ステロイド療法の効果については，通常量でのステロイド療法が患者の転帰を改善させることが報告されている（JAMA. 2020;324(13):1330-1341,N Engl J Med 2021; 384:693-704）．一方，中等症以上の COVID-19 肺炎に対してステロイドパルス療法が行われることがあるが，効果や有効性に関する研究は少なく，未だ世界各国の COVID-19 肺炎のガイドラインでも推奨が不明確である（PLOS ONE 15(9): e0239401）．

本研究の目的は，COVID-19 患者の転帰を改善させるためにステロイド治療，特に高容量ステロイド療法の効果を明にすることとした．最終的には，臨床的効果と重症化率や転帰との関係性を明らかにして，中等症・重症 COVID-19 重症肺炎に対する治療をプロトコール化する．治療プロトコール化により，COVID-19 重症肺炎への進展防止と治療効果が得られれば，人工呼吸器離脱期間の延長と ECMO 治療の回避により，人的不足の解消や集中治療室の滞在日数の減少と，重症病床の利用率の低下などにつながる．

我々は 2020 年 4 月 1 日から 2021 年 10 月 31 日の期間に COVID-19 肺炎の診断で集中治療室で加療した 108 名の患者を対象とした．SARS-CoV-2 PCR 陽性患者を COVID-19 肺炎と診

断し，そのうち高濃度酸素投与（リザーバー付き酸素マスク 6L 以上，もしくは高流量鼻カニュラや人工呼吸器管理）が必要であった患者を重症とした．重症度や流行時期から全くステロイド投与のなかった患者，早期死亡患者（入院もしくは救命救急センター入室 4 日以内の死亡患者），末期疾患患者（慢性呼吸器疾患，悪性腫瘍），入院時もしくは，ステロイドパルス療法施行時に何らかの感染症を合併していた患者は，検討から除外した．それらの患者で治療転帰との関係性を高容量ステロイド療法（ステロイドパルス療法；メチルプレドニゾロン 1000 ㎎/日×3 日間）を施行した COVID-19 患者の効果について後方視的に検討した．

その結果，集中治療室での加療を必要とした COVID-19 患者の転帰を生存・死亡の 2 群に分けた．両群間の入室時重症度には差を認めず（死亡群 SOFA スコア 5.2±2.9，生存群 4.2±2.0，死亡群 P/F 比 204.9±124.7，生存群 180.6±127.3），転帰に関係する治療薬との関係性を検索したところ，死亡群で有意にステロイドパルス療法が施行されていた（P=0.0063）．東呼吸器症候群（Middle East Respiratory Syndrome, MERS）に対するステロイド治療（ICU 入室から中央値 3.0 日，最大ヒドロコルチゾン相当量の中央値 300.0 mg（200.0-400.0 mg），中央値 7.0 日）は，90 日死亡率とは関連しなかったが，MERS-CoV RNA クリアランスを遅延させるとの報告（Am J Respir Crit Care Med, 2018; 197: 757-767.）がある．急性呼吸窮迫症候群（ARDS）に関して早期の通常量ステロイド療法は人工呼吸器持続時間と死亡率を低下させるとの報告（Lancet Respir Med. 2020 Mar;8(3):267-276）もあるが，今後，ステロイド治療の開始時期や投与量などの検討が必要である．（論文投稿中）

**権赫旭（経済学部）**

労働政策研究・研修機構が実施した企業パネル調査と職業特性のデータを利用して、職業特性が新型コロナウイルス感染症よる働き方と新技術導入にどのように異なる影響を及ぼしたかを検証した。

まず、ルーティンタスク強度が低い産業に属する企業の方がコロナ禍でテレワークをより実施し、また将来テレワークを実施する予定があることが明らかになった。これは、ルーティンタスク強度が高い職業には、生産工程、運搬・清掃などのテレワークに適さない仕事が含まれる一方、ルーティンタスク強度が低い職業は、教員、管理的職業、研究者・技術者など、テレワークでも一定の仕事がこなせる職業が含まれているためである。コロナ禍においては、政府からテレワークの要請が出されたにもかかわらず、出勤者数が劇的には減少しなかったことは職務自体がテレワークに適していなかった職業が一定数あったからであることを示唆する。

また、新型コロナは、日本経済や企業にとって大きな打撃を与えた一方で、企業の IT などの活用促進、DX の促進させたことがわかった。加えて、教育訓練や能力開発が間接的に DX 導入にも影響することを発見した。これは DX 化のみに囚われるのではなく、補完的な投資も引き続きやっていく必要があることを示唆する。

| 課題番号 | 22 独先 09 |
|---|---|

【様式 5 独創的・先駆的研究】

1. 荻島駿・権赫旭・児玉直美「職業特性によるテレワークの可能性とコロナ以降の企業行動」慶應義塾大学出版会・『コロナ禍における個人と企業の変容：働き方・生活・格差と支援策』第 4 章、95‐116.
2. 荻島駿・権赫旭・児玉直美「コロナ禍でどのような企業が新技術導入を行ったか」慶應義塾大学出版会・『検証・コロナ期日本の働き方：意識・行動変化と雇用政策の課題』第 10 章、215‐247.