

実績報告書（創成特定研究事業）

大学院医学研究院教授 福 原 崇 介

■プロジェクト研究構想名：

パンデミック制御に資する先制医療基盤の開発

1. 研究成果

本事業をきっかけにして開始した共同研究にて、豊嶋(医学研究院)より提供があった唾液検体を用いて、唾液検体から直接ウイルスゲノムを増幅して、組替え SARS-CoV-2 を作製する Direct CPER 法を開発した(Yamamoto et al J Clin Microbiol. 2024)。さらに、GFP を搭載した SARS-CoV-2 を作製し、薬剤や血清のウイルス中和能を迅速に評価する新規モデルを構築して、論文に発表した (Suzuki et al. J Virol Method. 2024)。加えて、以前より継続している変異株の解析として、BA. 2. 86 株に関しては Cell Host Microbe に発表を行った。

COVID-19 サイトカインストームモデルと主要変異ウイルスを用いてサイトカインストームや血栓症を誘導する免疫暴走の予防・制御因子、診断マーカー候補を探索中であり、特に腸管におけるサイトカインストーム発症機序解明を目指して研究を進める予定である(久保田(遺伝子病制御研究所)、福原(医学研究院))。また、本プロジェクトで共同研究を開始した遺伝子病制御研究所の久保田と工学研究院の真栄城は、共同研究を通じて新たな着想を得ることで、「In vitro 再構成エクソソームによる微小炎症制御手法の開発」を継続中である。現段階では論文化や特許として結実していないが、今後も共同研究を継続することで社会に還元していく予定である。

真栄城は昨年度までに確立したアプタマーをトレーサーとした蛍光偏光免疫測定法 (Fluorescence polarization immunoassay: FPIA) によって、SARS-CoV-2 の検出に取り組んだ。アプタマーライブラリーを構築し、リコンビナントのスパイクタンパク質によるスクリーニングを行った。その結果、数種類のアプタマーで大きな偏光度変化が確認され、ウイルス検出への応用可能性を見出した。そこで、選抜したアプタマーを用いて、様々な SARS-CoV-2 の変異株の測定のための条件最適化に取り組んでおり、将来的には新興感染症の超早期検出法に展開する予定である。

2. 若手研究者のプロジェクトへの関与の状況、若手研究者育成への効果及び参画によるプロジェクトへの効果

特になし

3. 業績（延長支援開始以降）

(1) 研究構想に記載した論文等に係る目標値の達成状況

半年間で原著論文として5編を発表し、eBioMedicine や J Clin Microbiol といった一流雑誌にも採択されていることから、目標値通りの成果が得られたと考えられる。

査読付き英語論文数: 5

1. Hossain MB, Uchiyama Y, Rajib SA, Rahman A, Takatori M, Tan BJY, Sugata K, Nagashima M, Kawakami M, Ito H, Kumagai R, Sadamasu K, Ogi Y, Kawaguchi T, Tamura T, **Fukuhara T**, Ono M, Yoshimura K, Satou Y. A micro-disc-based multiplex method for monitoring emerging SARS-CoV-2 variants using the molecular diagnostic tool Intelli-OVI. **Commun Med.** 4(1): 161, 2024
2. Tsujino S, Deguchi S, Nomai T, Padilla-Blanco M, Plianchaisuk A, Wang L, Begum MM, Uriu K, Mizuma K, Nao N, Kojima I, Tsubo T, Li J, Matsumura Y, Nagao M, Oda Y, Tsuda M, Anraku Y, Kita S, Yajima H, Sasaki-Tabata K, Guo Z, Hinay AA Jr, Yoshimatsu K, Yamamoto Y, Nagamoto T, Asakura H, Nagashima M, Sadamasu K, Yoshimura K, Nasser H, Jonathan M, Putri O, Kim Y, Chen L, Suzuki R, Tamura T, Maenaka K, Irie T, Matsuno K, Tanaka S, Ito J, Ikeda T, Takayama K, Zahradnik J, Hashiguchi T, **Fukuhara T**, Sato K. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron EG.5.1 variant. *Microbiol Immunol*. In press, 2024
3. Yamamoto H, Tamura T, Ichikawa T, Taguchi Y, Mori K, Oguri S, Suzuki R, Suzuki S, Teshima T, **Fukuhara T**. Generation of recombinant viruses directly from clinical specimens of COVID-19 patients. **J Clin Microbiol.** 62(7): e0004224, 2024
4. Fujita S, Plianchaisuk A, Deguchi S, Ito H, Nao N, Wang L, Nasser H, Tamura T, Kimura I, Kashima Y, Suzuki R, Suzuki S, Kida I, Tsuda M, Oda Y, Hashimoto R, Watanabe Y, Uriu K, Yamasoba D, Guo Z, Hinay AA Jr, Kosugi Y, Chen L, Pan L, Kaku Y, Chu H, Donati F, Temmam S, Eloit M, Yamamoto Y, Nagamoto T, Asakura H, Nagashima M, Sadamasu K, Yoshimura K, Suzuki Y; Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium; Ito J, Ikeda T, Tanaka S, Matsuno K, **Fukuhara T**, Takayama K, Sato K. Virological characteristics of a SARS-CoV-2-related bat coronavirus, BANAL-20-236. **EBioMedicine.** 104: 105181, 2024
5. Ito H, Tamura T, Wang L, Mori K, Tsuda M, Suzuki R, Suzuki S, Yoshimatsu K, Tanaka S, **Fukuhara T**. Involvement of SARS-CoV-2 accessory proteins in immunopathogenesis. **Microbiol Immunol.** 68(7): 237-247, 2024

(2) 特許申請・取得状況

特になし

(3) 外部資金獲得状況

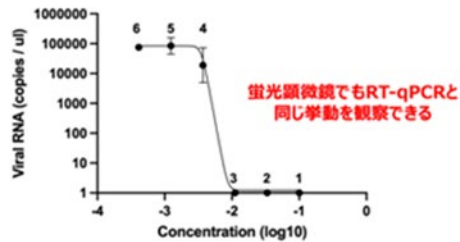
特になし

(4) その他特筆すべき業績

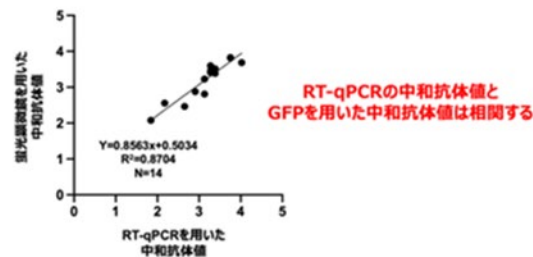
特になし

開発されるワクチンの有効性の迅速評価系の構築

RT-qPCRと蛍光顕微鏡を用いた中和能比較



RT-qPCRによる中和抗体価と蛍光顕微鏡による中和抗体価の比較



蛍光顕微鏡法とRT-qPCR法の比較

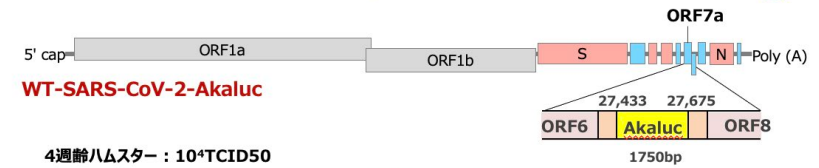
	顕微鏡法	PCR法
測定時間	3分以内 (1検体)	2時間 (3検体)
処理可能検体数	20検体/h	1.5検体/h
ランニングコスト	≒300円	≒2万円

*: 1検体を8段階希釈でそれぞれN=3で測定した場合

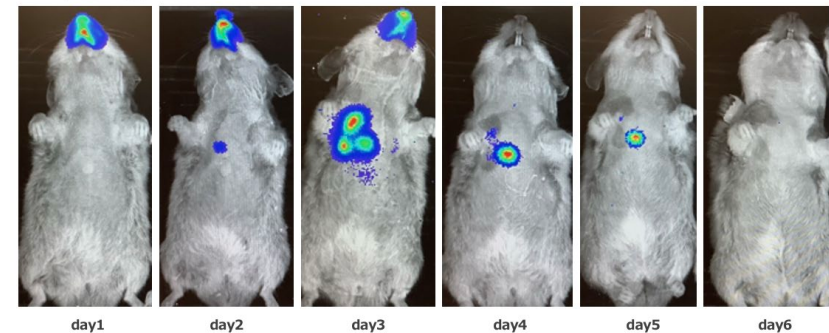
A third dose of the BNT162b2 mRNA vaccine sufficiently improves the neutralizing activity against SARS-CoV-2 variants in liver transplant recipients

顕微鏡法を用いて短時間で300検体以上を解析できた

SARS-CoV-2感染のIn vivo Imaging



4週齢ハムスター: 10^4 TCID₅₀



- GFPを搭載し、様々なSを持つ組換えウイルスの作製
- Akalucを搭載した組換えウイルスを用いたin vivo imaging確立
- SARS-CoV-2の変異株の性状解析実施

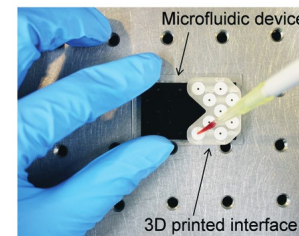
サイトカインストームモデルの開発

ストレス



マイクロ流体デバイスによる細胞外小胞の検出

デバイス



非競合蛍光偏光免疫測定

