

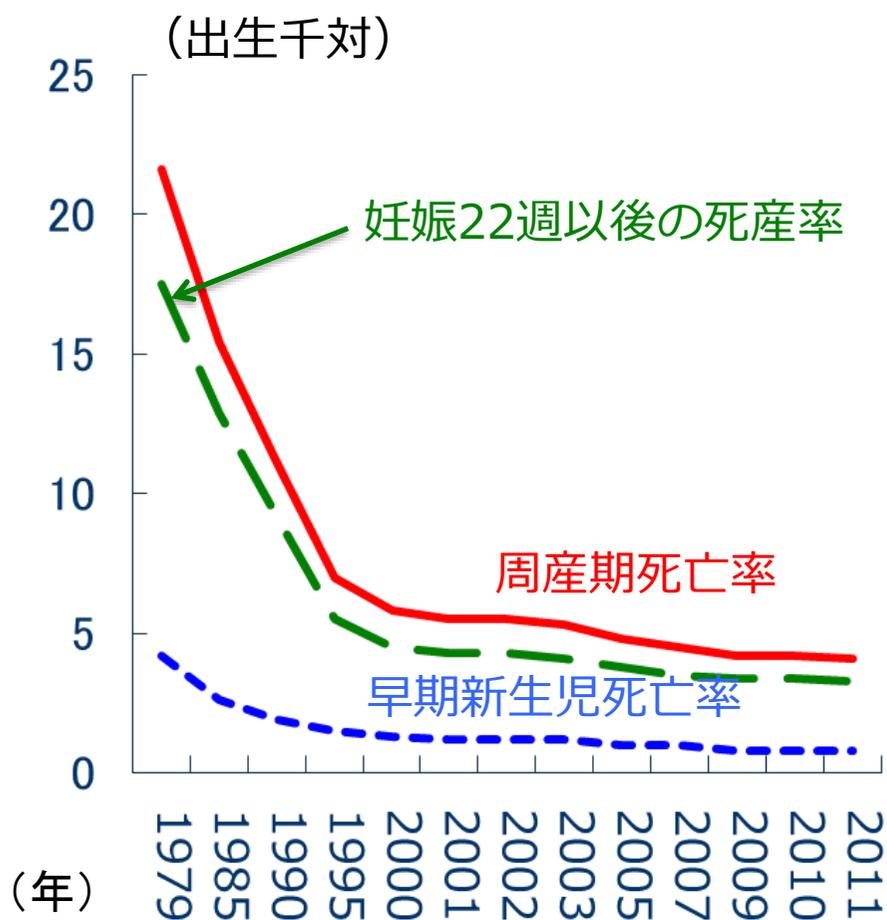
# NGS（次世代シーケンサー）を活用した 発症予測自己学習型アプリケーションの開発

福岡大学 医学部 医学科（産婦人科）  
教授 宮本 新吾

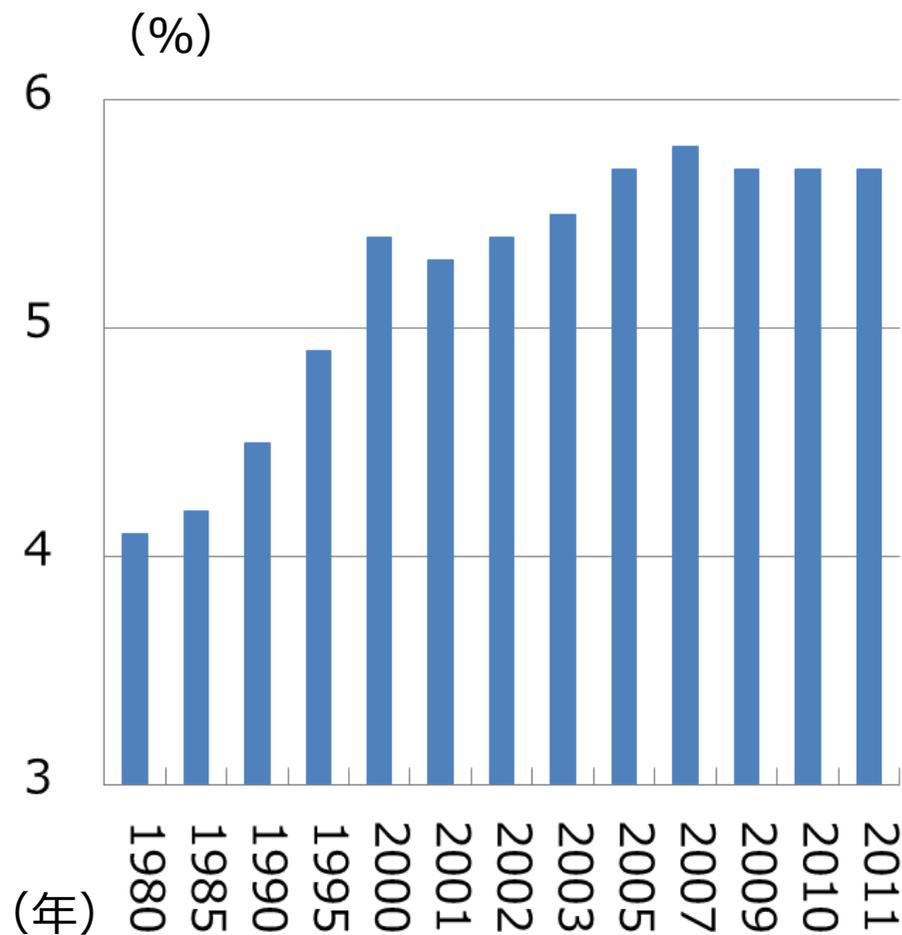
2022年5月31日

# 本邦における周産期死亡率および早産の背景

## 周産期死亡率



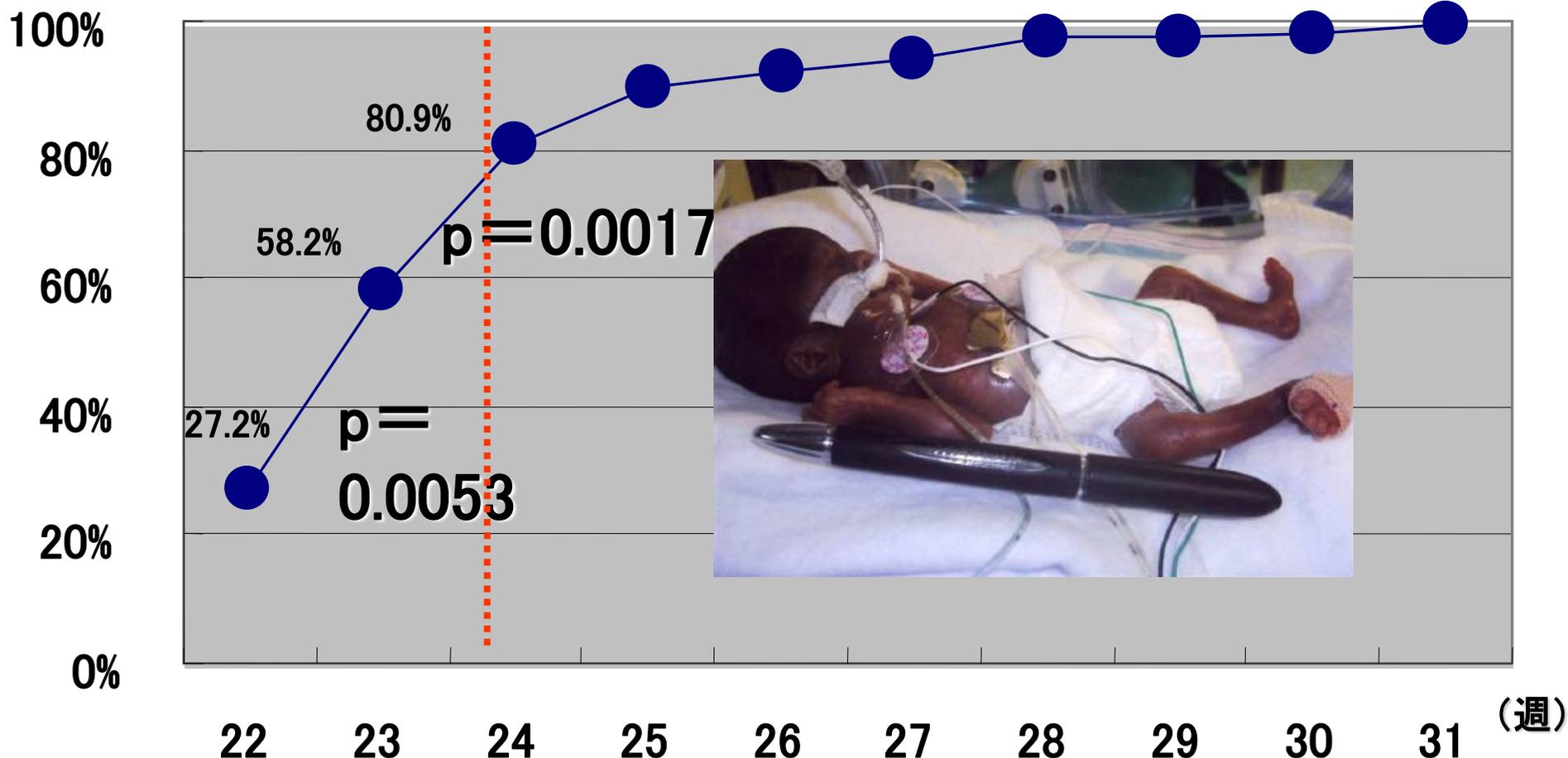
## 早産率



母子保健の主要な統計、2012より

# 分娩時妊娠週数毎の生存率（死産を含まない）

新技術説明会  
New Technology Presentation Meetings!



登録参加116施設における 51,650分娩(周産期死亡数 807)  
2001年における全分娩1,170,662の4.4%  
周産期死亡総数6,333の 12.5% (日産婦誌 2004)

# 子宮内感染の感染経路と診断法

## ⑥臨床的絨毛膜羊膜炎

## ⑤組織学的絨毛膜羊膜炎

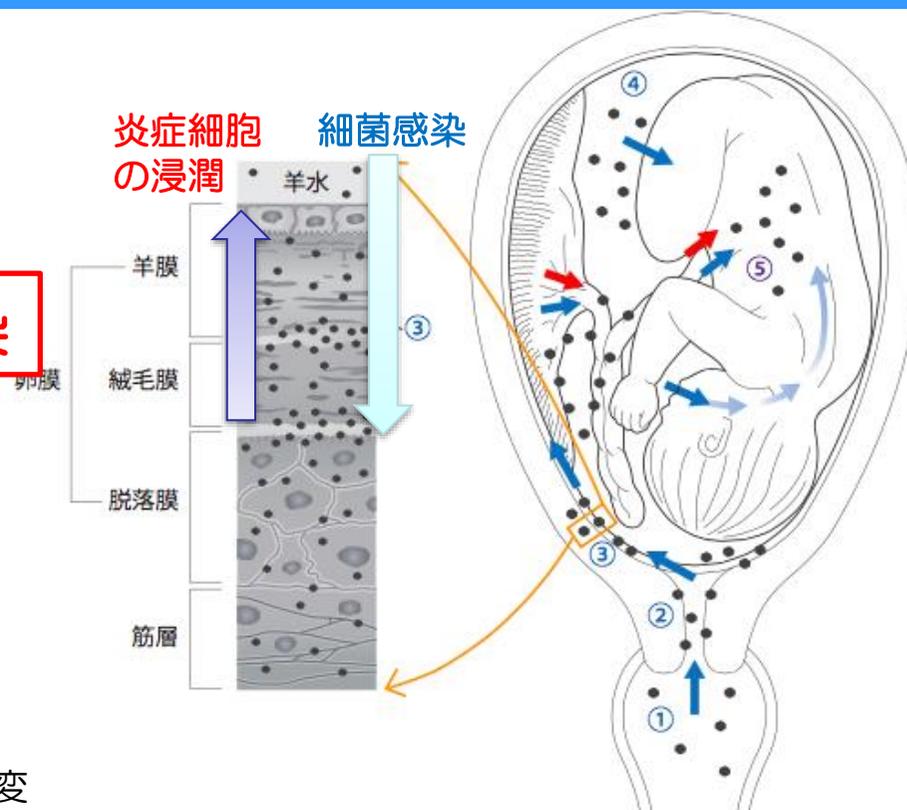
## ④胎児感染

## ③羊水感染

## ②子宮頸管炎

## ①細菌性膣症など

子宮内感染



産科医療保障制度報告書より引用，一部改変

- 子宮内感染は前期破水・早産など、妊娠経過に重大な影響を及ぼす
- 妊娠中の診断が困難（羊水培養検査と臨床的CAMは低感度・高特異度）
- 診断の遅れは児に重大な影響を及ぼすこともあるため、的確な診断が求められる

## 本技術に関する知的財産

発明の名称：「絨毛膜羊膜炎関連微生物検出用プライマーセット、アッセイキット、および絨毛膜羊膜炎検出方法」

登録番号： 特許第6860771号

出願人： 学校法人福岡大学、国立研究開発法人国立成育医療研究センター

発明者： 宮本 新吾(学校法人福岡大学)・秦 健一郎(国立研究開発法人国立成育医療研究センター)

# これまでの絨毛膜羊膜炎治療の課題と解決策

## 新技術説明会

New Technology Presentation Meetings!

(1) 抗菌剤の選択 (特許取得)

羊水感染症例より起炎菌の同定

(2) 治療効果の判定 (特許取得)

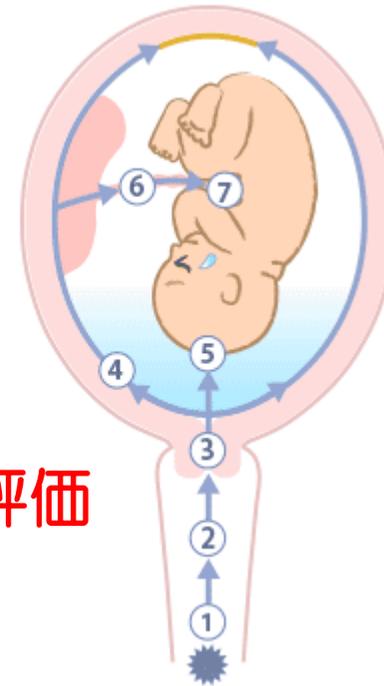
16S rDNA定量化による感染状況の評価

(3) 治療症例の選択 (特許取得)

NGSによる腔細菌叢の乱れの評価

(4) Cytokine Stormの治療剤

幹細胞治療あるいは上清を用いた治療薬の開発



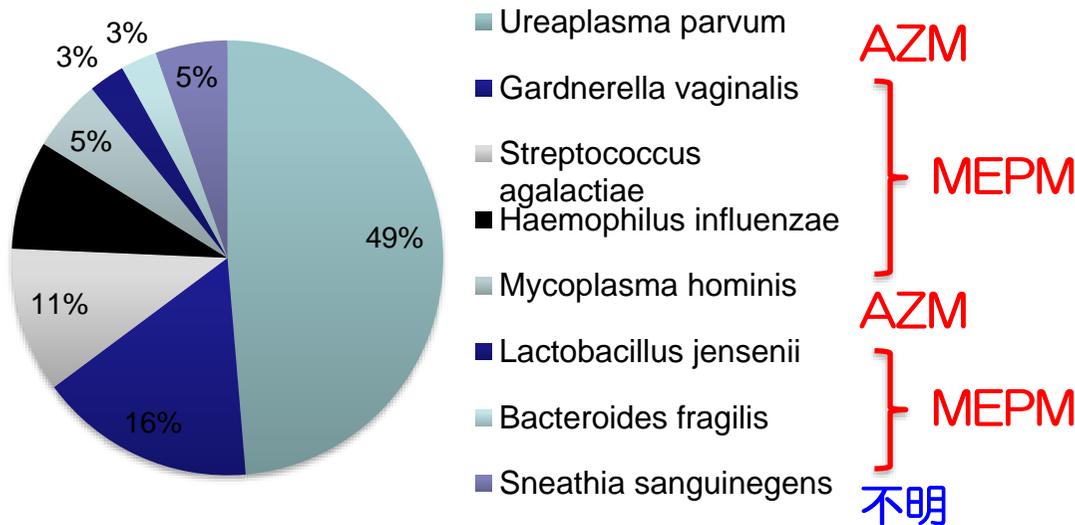
- ⑦ 胎児感染
- ⑥ 臍帯炎
- ⑤ 羊水感染
- ④ 絨毛膜羊膜炎
- ③ 子宮頸管炎
- ② 膣炎
- ① 細菌性膣症

絨毛膜羊膜炎発症ハイリスク切迫早産症例を対象とした治療的抗菌剤投与による第II 相臨床研究  
(Urushiyama, et al. Sci Rep 2017, 2021)

# 絨毛膜羊膜炎：研究提案に至った背景（1）

先行研究 (*Sci.Rep.* 2017) に基づき開発した「主要な起炎菌9菌種の検出法（特許出願済）」による子宮内感染43例の後ろ向き検討

	MEPM感受性	AZM感受性	最上位として検出された症例数(割合)	わずかでも検出された(組成比0.1%以上)症例数(割合)
<i>Ureaplasma parvum</i>	×	○	18 (42%)	33 (77%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	○	不明	6 (14%)	11 (26%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	○	△(±)	4 (9%)	5 (12%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	○	○	3 (7%)	5 (12%)
<i>Mycoplasma hominis</i>	×	○	2 (5%)	3 (7%)
<i>Lactobacillus jensenii</i>	○	不明	1 (2%)	2 (5%)
<i>Bacteroides fragilis</i>	○	×	1 (2%)	2 (5%)
<i>Sneathia sanguinegens</i>	不明	不明	2 (5%)	4 (9%)
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	○	不明	0 (0%)	1 (2%)



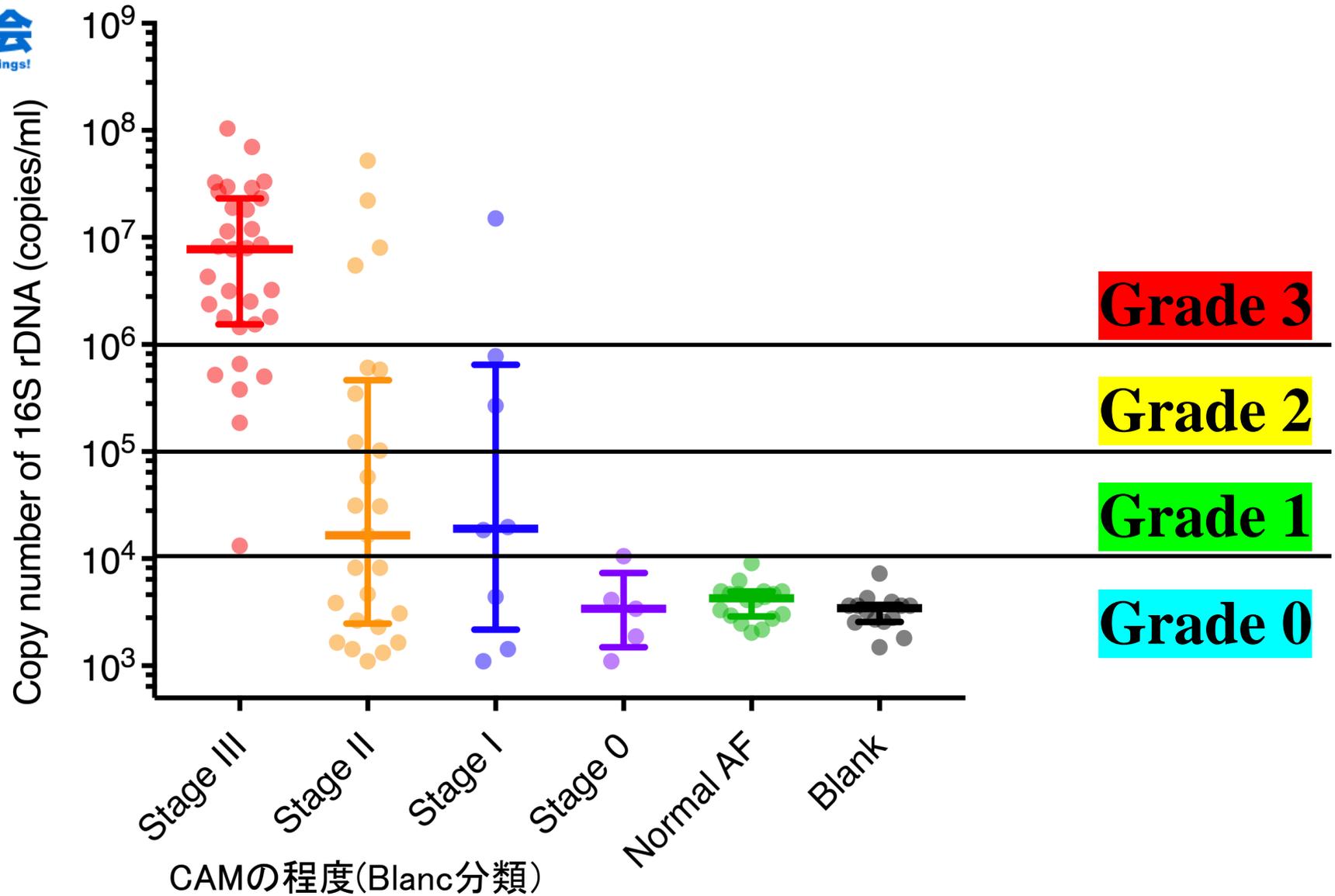
Urushiyamaら, *Sci Rep*, 2017より引用改変

- *Sneathia sanguinegens*が最上位に検出された2例のうち1例(2.3%)は混合感染であった。
- *Sneathia sanguinegens*が検出されたのは4例(9%)であった。

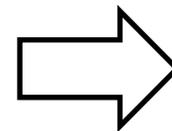
子宮内感染例の95%以上はAZM+MEPMが有効と考えられる。

# 羊水感染を羊水中16S-rDNA量で判断する根拠 (発表予定)

新技術説明会  
New Technology Presentation Meetings!

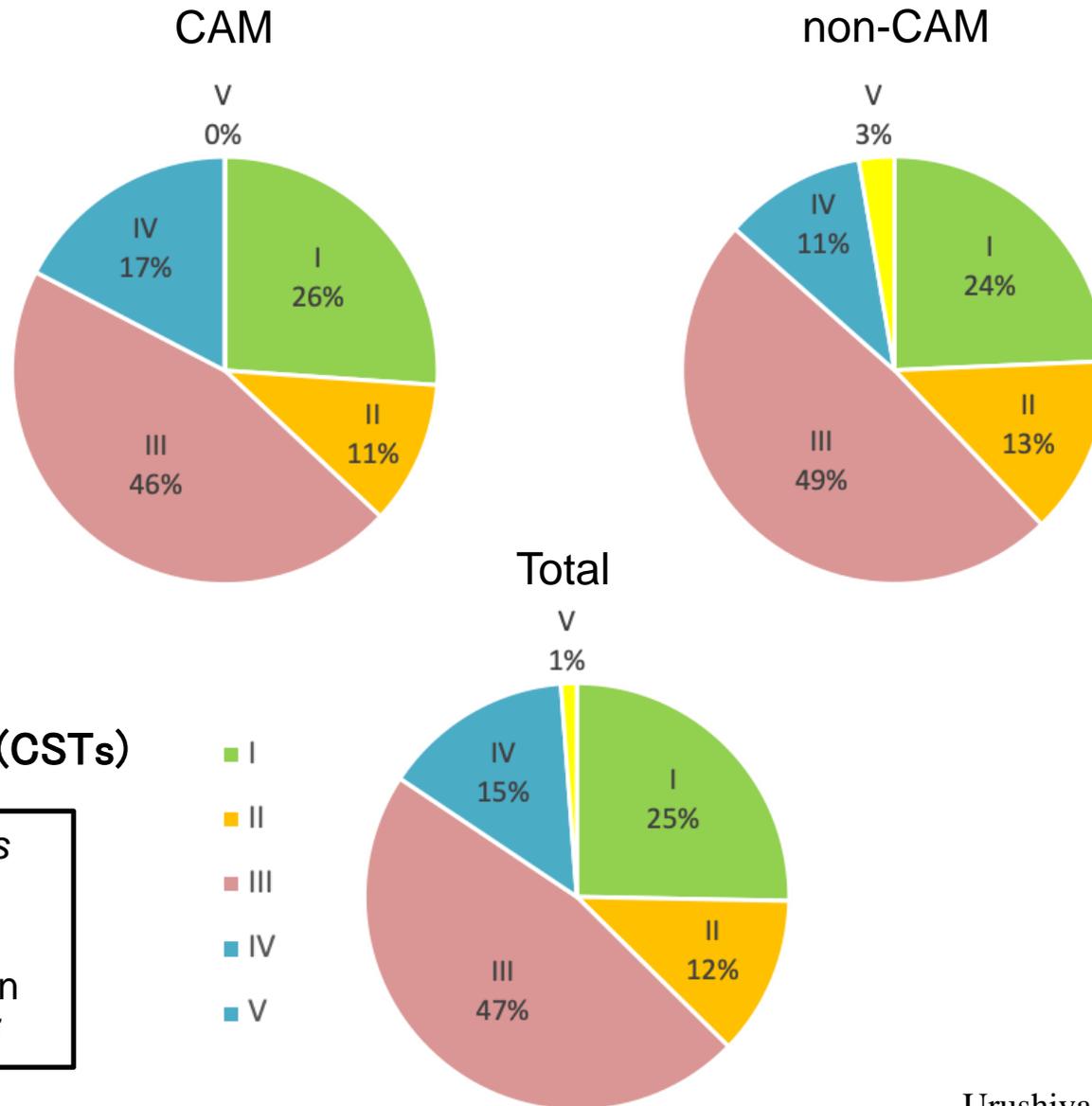


デジタルPCRで16S-rDNAコピー数を  
定量しGradingする



羊水感染の程度を診断

# 実際の子宮内感染に至る腔フローラの変化



Urushiyamaら, *Sci Rep*, 2021より引用改変

- CAMの有無でCSTの分布に違いはなかった
- アジア人の分布、BVに相当するCST IVの頻度も既報告と同程度

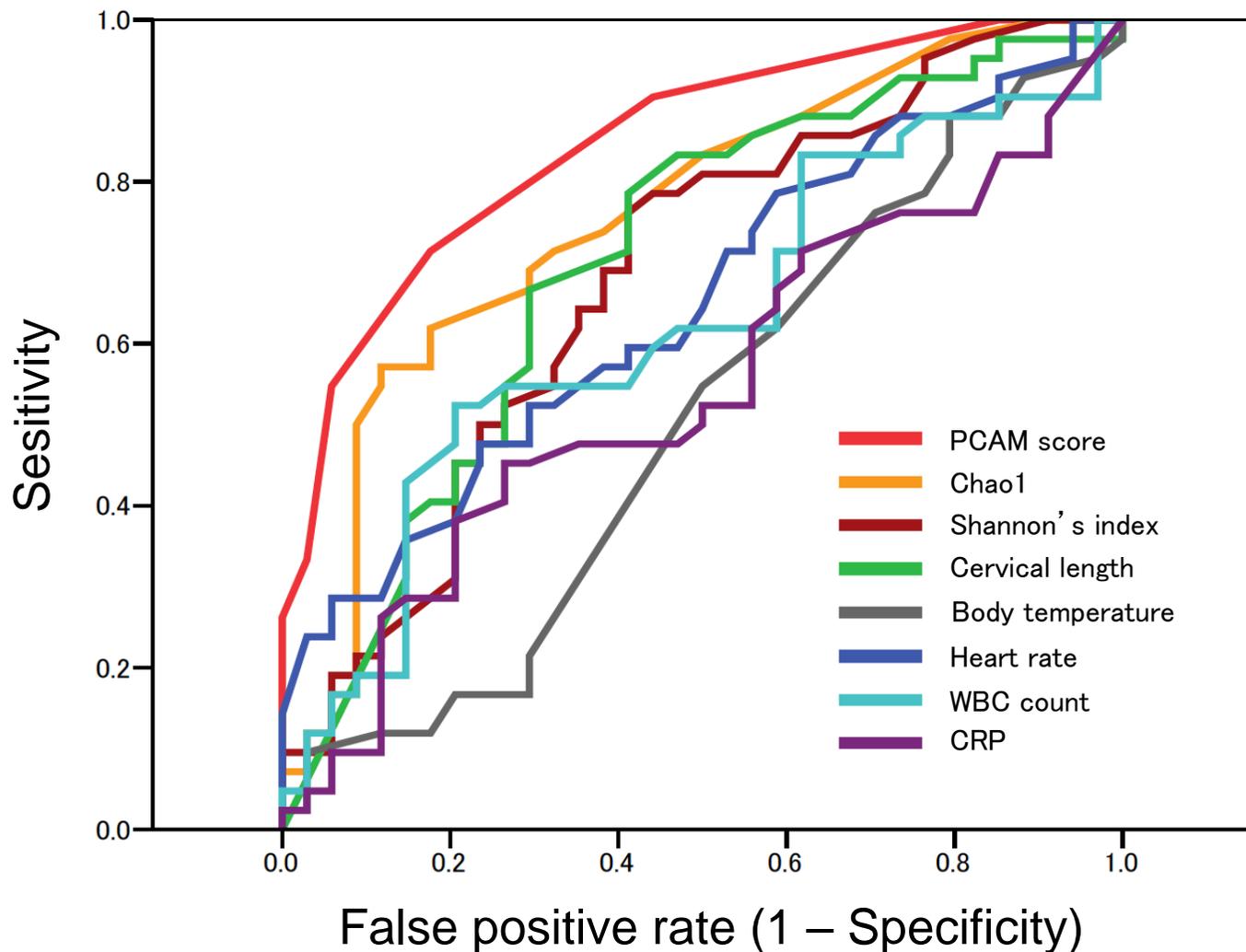
# これまでの研究成果

## 膣フローラの解析(NGS)によるCAM予測陽性群と陰性群の特徴

	陽性群 (N=16)	陰性群 (N=27)	P value
入院週数 (weeks) (膣フローラ採取)	30.4	29.9	0.257
子宮頸管長 (mm)	15.5	20.0	0.307
母体血清CRP値 (μg/ml)	0.35	0.30	0.828
Blanc II~III	14/16 (88 %)	11/27 (41 %)	0.004
分娩週数 (weeks)	31.6	33.9	0.017
妊娠延長期間 (Days)	10.6	26.1	0.002
出生体重 (g)	1591	1945	0.011
発達遅滞 (3歳時:染色体異常例を除く)	5/14 (36 %)	0/22 (0 %)	0.019

# ROC曲線による予測診断精度の比較

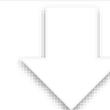
【方法】 作製したスコアリング法が臨床的な指標である体温・心拍数・白血球数・CRP値・子宮頸管長と一般的な16SrRNA遺伝子解析結果である $\alpha$ 多様性指数(chao1・Shannon's index)と比較して優れているかを検討するために、ROC曲線を描き、CAMの診断精度を比較した



一般的な細菌叢解析(Chao1)などでは診断精度はさほど高くない



機械学習の結果に $\alpha$ 多様性の概念を応用して、新しいスコアリング法を開発



**<PCAM score>**

[CAM群優位菌のOTU数] -  
[non-CAM群優位菌のOTU数]  
と定義した。

※OTU数: 菌種の種類数

( $\alpha$ 多様性指数の一つ)

Urushiyamaら, *Sci Rep*, 2021より引用改変

【結果】 PCAM scoreが最もAUCが大きかった

【考察】 機械学習を取り入れてOTU数をカウントする手法はCAMの予測に有用と考えられた

# 迅速型NGSを用いた感染症検査方法の確立

## 新技術説明会 New Technology Presentation Meetings!



MinION Mk1C装置  
手のひらサイズ  
一式で100万円程度



Flongle  
(安価な運用コスト)

### 次世代シーケンサーの比較

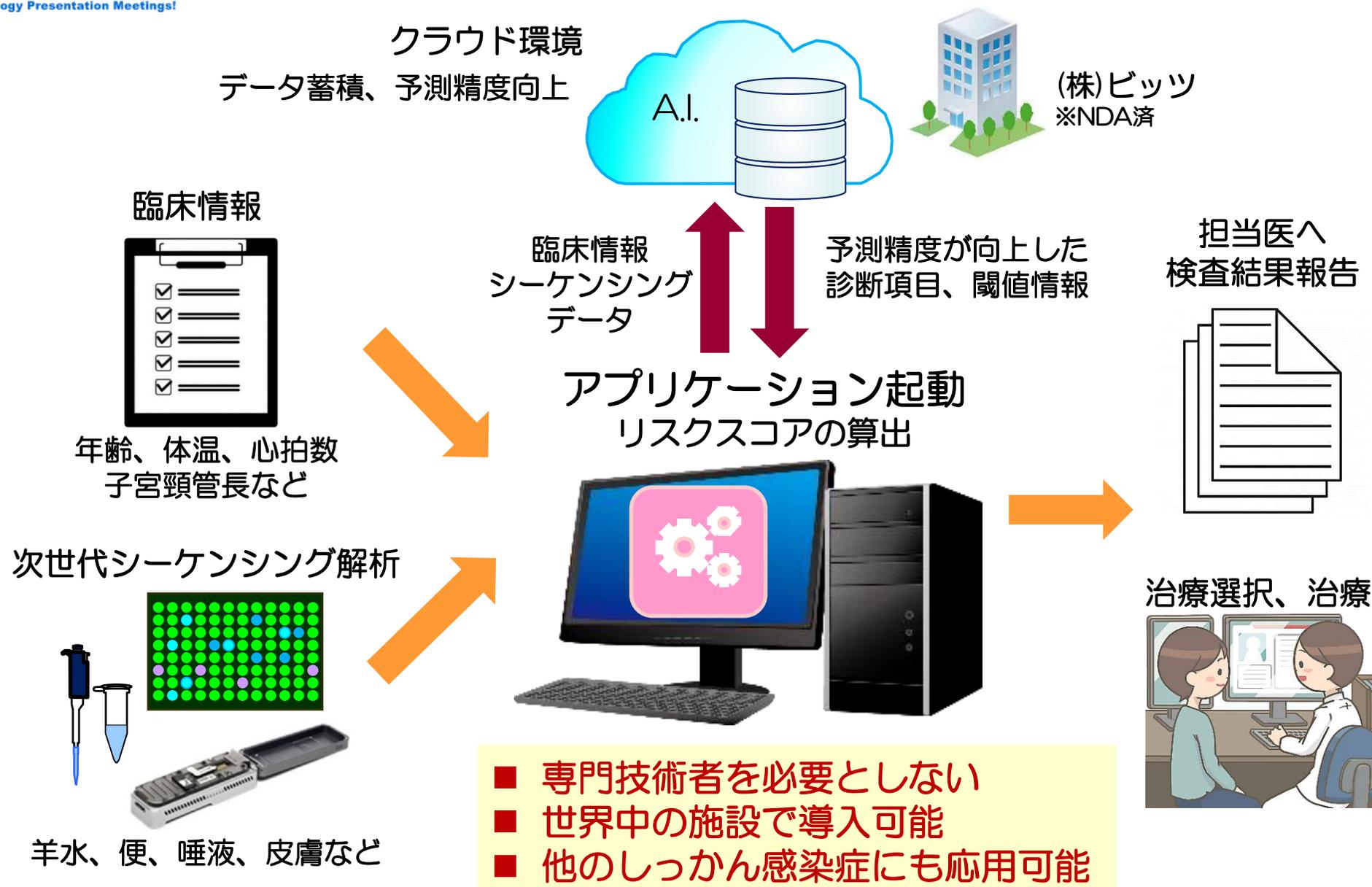
	一般的なNGS (MiSeq使用時)	ナノポア社の迅速型NGS (MinIONとFlongle併用時)
シーケンス前処理	1日	} 合わせて 3~5時間
シーケンサー稼働時間	3日	
一度に処理できる検体数	1~384	1(~12)
シーケンスコスト	1検体でも384検体でも30万円	1検体 1万円以下
解析時間	2~3時間	2時間

- 1) 高額機器が不要
- 2) 操作手順が簡便
- 3) 解析も容易・短時間で終了
- 4) 翌日には結果返却可能

日常診療に実装化可能

# クラウドシステムを使用した自己学習型アプリケーション開発

## 新技術説明会 New Technology Presentation Meetings!



# 特定臨床研究：絨毛膜羊膜炎を伴う切迫早産への抗菌剤投与

## 選択基準

1. 妊娠34週未満の切迫早産例
2. 前期破水の所見なし
3. 主要臓器障害なし（血液検査）
4. 年齢18歳以上
5. 腔細菌叢解析で陽性（PCAMスコア2点以上）と診断
6. 羊水16S rDNAコピー数が $10^6$  copies/mL未満

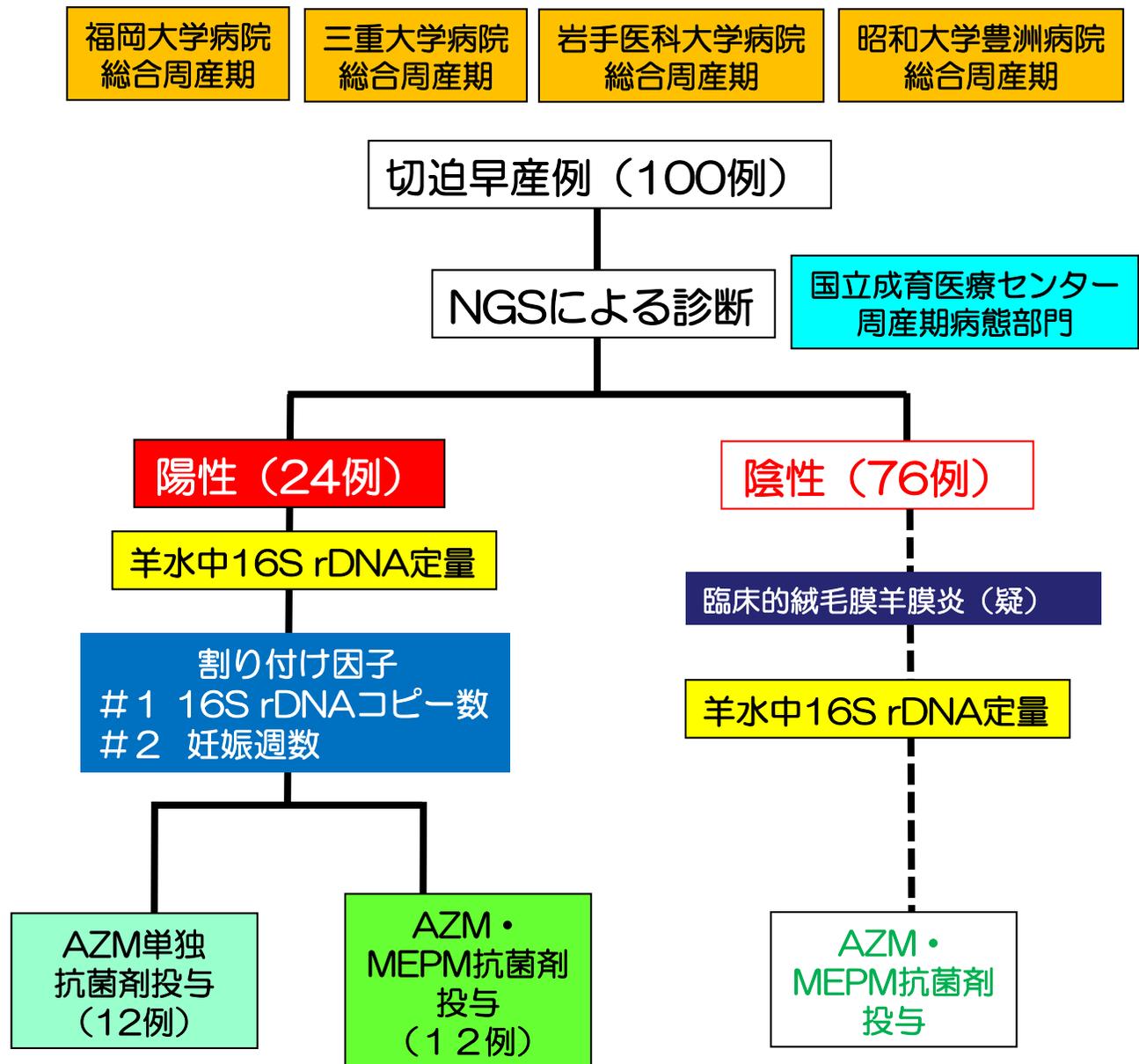
## 除外基準

1. 体温38度以上
2. HR 120/分かつWBC 20000/ $\mu$ L以上
3. 臨床的絨毛膜羊膜炎（Lenckiらの基準）
4. 重篤な合併症（コントロール不良の精神疾患・DM・感染症・悪性腫瘍・妊娠高血圧腎症など）
5. AZMやMEPMに薬剤過敏性の既往
6. NGSやdPCRが稼働しなかった場合
7. 研究責任者や分担者が不適当と判断した場合

羊水検査結果が報告される前に娩出された症例は、登録から除外する。

## 主要評価項目

2回目の羊水中16S rDNA量

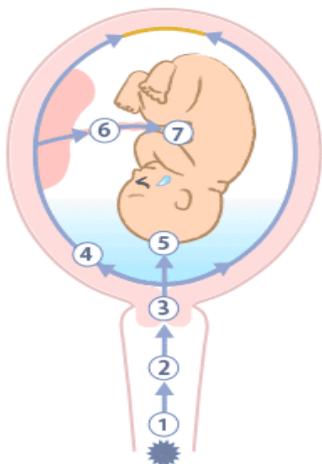


2022年1月に臨床研究審査委員会の承認を受け、jRCT登録済（jRCTs071210114）。

# 絨毛膜羊膜炎リスクのスクリーニング検査法と予防法の検討

## 新技術説明会

New Technology Presentation Meetings!



- ⑦ 胎児感染
- ⑥ 臍帯炎
- ⑤ 羊水感染
- ④ 絨毛膜羊膜炎
- ③ 子宮頸管炎
- ② 膣炎
- ① 細菌性膣症

細菌性膣症がリスク因子  
切迫早産を必発

膣細菌叢の機械学習処理による  
絨毛膜羊膜炎の予測  
(Sci Rep, 2021など)

妊娠16~20週の妊婦を収集し、コ  
ホート内症例対照研究を行う

膣細菌叢採取

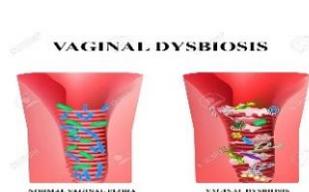
DNA抽出・NGS解析

クラウドシステムにアップロード

AI解析

分娩転機との相関解析

切迫早産発症時は計画2)へ  
プレ・プロバイオティクス投与



妊婦の膣細菌叢バンク



Innovative  
Biodiversity



(株)Varinos  
※NDA済



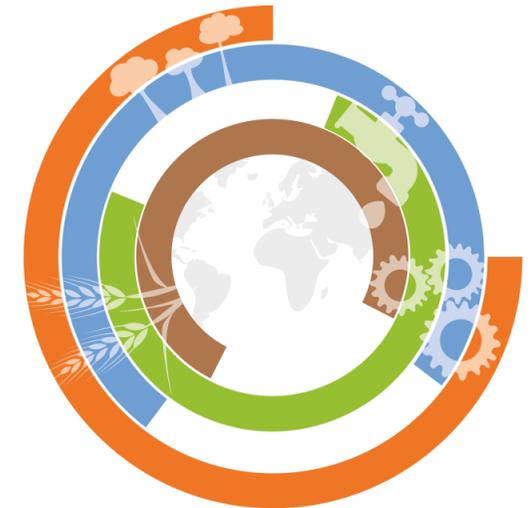
(株)ビッツ  
※NDA済

# 腔細菌叢解析に関する研究展開及びビジネス展開

## 新技術説明会 New Technology Presentation Meetings!

子宮内感染・循環障害疾患

絨毛膜羊膜炎 着床障害



クラウド情報網



腔細菌叢情報バンク

# 本研究に関連する出願特許

## 新技術説明会

New Technology Presentation Meetings!

発明の名称：絨毛膜羊膜炎関連微生物検出用プライマーセット、アッセイキット、および絨毛膜羊膜炎検出方法  
登録番号：特許第6860771号  
出願人：学校法人福岡大学、国立研究開発法人国立成育医療研究センター  
発明者：宮本新吾、秦健一郎

発明の名称：絨毛膜羊膜炎の発症予測方法  
出願番号：PCT/JP2020/045298, PCT/JP2020/045299  
出願人：学校法人福岡大学、国立研究開発法人国立成育医療研究センター  
発明者：宮本新吾、漆山大知、四元房典、秦健一郎

発明の名称：子宮内感染の検出方法  
出願番号：PCT/JP2021/003405  
出願人：学校法人福岡大学、国立研究開発法人国立成育医療研究センター  
発明者：宮本新吾、漆山大知、四元房典、秦健一郎

発明の名称：胎児感染の検出方法  
出願番号：2022-054362  
出願人：学校法人福岡大学、国立研究開発法人国立成育医療研究センター  
発明者：宮本新吾、漆山大知、秦健一郎

発明の名称：妊娠関連有害事象の発生を予測する方法、予測装置及びコンピュータプログラム  
出願番号：申請準備中  
出願人：学校法人福岡大学、国立研究開発法人国立成育医療研究センター  
発明者：宮本新吾、漆山大知、秦健一郎、柴田磨己

発明の名称：XXXXXXXXXXを予測診断する検査法の開発  
出願番号：申請準備中  
出願人：学校法人福岡大学、国立研究開発法人国立成育医療研究センター  
発明者：宮本新吾、漆山大知、柴田磨己、秦健一郎

# 従来技術とその問題点

- ◆ ウイルスあるいは細菌感染症を診断する方法には、培養検査方法、抗原検査方法、PCR方法がある。
- ◆ 培養方法は、迅速性に大きく劣り、精度もかなり低い。
- ◆ 抗原検査方法やPCR方法は、迅速性には問題ない。しかし、高精度とは言いがたく定量性はない。また、混合感染を評価できない。
- ◆ 定性性、定量性、混合感染（複数の細菌、ウイルスなど）などを統合的に高精度で検出する方法がない。

## 新技術の特徴・従来技術との比較

- 迅速性に優れ、定性性・定量性に混合感染も高精度で検出できる世界初の画期的な検査方法の開発に成功した。
- A.I.（人工知能）により、臨床背景データと感染症発症に関連する細菌群・ウイルス群を統合的に解析することで臨床的予後を予知することも可能となる世界初の画期的な検査方法の開発に成功した。
- クラウド網に累積される結果を活用して、さらに予後を予知する検査精度を向上することができる世界初の画期的な検査方法の開発に成功した。

## 想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、妊娠に伴う子宮内感染を腔内細菌叢解析、羊水細菌叢解析に活用することで、早産新生児の予後を大きく改善できる。
- 不妊症による子宮内感染の評価にも適応できることが期待される。
- 敗血症の診断・治療、コロナ感染を含めたウイルス感染症の定性的・定量的な統合的解析により、感染症全体の予後を大きく改善することに寄与できる。

## 実用化に向けた課題

- Flongle NGS解析は、アカデミアによる使用が承認されているが、商業ベースでの活用にはナノポア社からの承認が必要である。ナノポア社の参画により解決可能である。
- A.I.解析プログラムも、アカデミアによる使用しか認められていないため、プログラム使用の承認あるいは、商業ベースで運用できるプログラムを活用する必要がある。ナノポア社の参画により解決可能である。
- 敗血症など広範囲での適応拡大を行う上で資金調達が必要である。
- NGSデータの累積システムの構築を再検討する必要がある（まもなく解決可能）。

# 企業への期待

- これまでに累積された成果は、日本国民の健康保持に寄与するだけでなく、世界的な活用が期待される。従って、グローバルな開発視点を有する企業に参画頂きたい。
- 感染症全体の予後を大きく改善することが期待される。
- 感染症以外の疾患領域への活用も十分に考慮される。
- 将来的に公的知財として運用を考慮している企業との共同開発を希望している。

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 次世代シークエンスデータを用いて  
発症を予測する自己学習型  
アプリケーションの開発
- 出願番号 : 特願2022-011019
- 出願人 : 学校法人福岡大学、  
国立成育医療研究センター、  
学校法人東海大学
- 発明者 : 宮本 新吾、漆山 大知、  
柴田 磨己、秦 健一郎、今西 規

# お問い合わせ先

福岡大学 研究推進部 産学官連携センター

TEL 092-871-6631

FAX 092-866-2308

e-mail [sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp](mailto:sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp)