

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

ポリオ野生株ウイルスの封じ込め対策に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 宮村 達男

平成18(2006)年 4月

目 次

I. 総括研究報告書

ポリオ野生株ウイルスの封じ込め対策に関する研究に関する研究……………宮村 達男……………1

II. 分担研究報告書

1. 野生株ポリオウイルス保有状況と管理状況に関する調査についての研究……………宮村 達男……………9
2. 野生株ポリオウイルス実験室封じ込め調査についての研究……………清水 博之 ……17
3. コミュニティに Silent circulation するポリオウイルスに関する研究……………吉田 弘 ……21
4. ポリオウイルス感受性動物モデルに関する研究……………小池 智 ……27
5. ラオス AFP 症例より分離された 2 型ワクチン由来ポリオウイルス ……西村 順裕 ……31
有田 峰太郎
吉田 弘
清水 博之
宮村 達男
6. ポリオウイルス疑似粒子を用いたポリオ様麻痺発症モデルマウスの開発 ……有田 峰太郎 ……35
清水 博之
宮村 達男

III. 研究成果の刊行に関する一覧 ……37

IV. 研究成果の刊行物・別冊 ……39

ポリオ野生株ウイルスの封じ込め対策に関する研究

主任研究者：宮村 達男 国立感染症研究所 ウイルス第二部 部長

研究要旨 野生株ポリオウイルスの世界的根絶が間近となり、WHO は「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画」を策定し、全世界で統一された基準のもと、ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めを進めることを提唱している。現在最終局面にある世界ポリオ根絶計画が達成された後、人為的、非人為的ないかなる理由であれ、ポリオウイルスがヒト集団に再流行することがないように、起こり得るポリオ流行のリスクを評価し、適切かつ具体的な制御戦略を検討するため、以下の研究を行った。

- 1) 大学とその附属機関、共同利用機関などの統廃合による教育・研究機関等、調査対象施設の変更に対応するため、野生株ポリオウイルス保有施設調査対象の再選定を行った。
- 2) ポリオウイルス関連研究論文発表状況の分析を実施した。
- 3) 野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する WHO 世界的行動計画第 2 版全編の日本語訳を行い、雑誌「ウイルス」に掲載することにより、ポリオウイルス実験室封じ込めの重要性について周知を図った。
- 4) 2005 年のラオスの AFP 症例 1 例から 2 型 VDPV を検出した。当該地域のワクチン接種率が低く VDPV が接触者からも検出されたことから、ワクチン接種率の低い地域における VDPV によるポリオ流行のリスクを明らかにした。
- 5) 中国雲南省における AFP 患者の糞便検体から分離された非ポリオエンテロウイルスについて、血清型の同定および分子系統解析を実施し、HEV-C を含む多様性の富んだエンテロウイルスが伝播していることが明らかとなった。
- 6) ヒトの自然感染におけるウイルスの排出やウイルスの個体間伝播などについて研究するため、大幅に経口感染の効率が上昇 PVR-tg/Ifnar-knockout マウスを作成し、一定の条件下ではすべてのマウスに経口感染を成立させられることを見出した。
- 7) ポリオウイルス擬似粒子を用いて Tg マウスの脊髄内の運動神経を定量的に破壊することにより、持続的なポリオ様麻痺を呈する感染モデルの開発を試みた。

分研担当者

清水 博之	国立感染症研究所
吉田 弘	国立感染症研究所
有田 峰太郎	国立感染症研究所
西村 順裕	国立感染症研究所
小池 智	東京都神経科学総合研究所

協力研究者

安藤 秀二	国立感染症研究所
永田 典代	国立感染症研究所
Tian Bingjun	中国雲南省 CDC
小松 俊彦	バイオメディカルサイエンス研究会

A. 研究目的

現在最終局面にある世界ポリオ根絶計画が達成された後は、人為的、非人為的ないかなる理由であれ、ポリオウイルスがヒト集団に再流行することがないように、起こり得るポリオ流行のリスクを評価し制御戦略を検討することが必要となる。ポリオ根絶後における重要なリスク要因のひとつとして、実験室に保管されているポリオウイルスに由来するポリオ流行が想定されており、ポリオウイルスの実験室封じ込め対策についての具体的な行動が求められている。そのため、WHOは「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画」を策定し、全世界で統一された基準の下、ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めを進めることを提唱している。本年度の研究目的は、以下の通りである。

- 1) 大学とその付属機関、共同利用機関などの統廃合による全国教育・研究機関等、調査対象施設の組織変更に対応するため、調査対象の再選定を行う。
- 2) ポリオウイルス関連研究論文発表状況の分析を実施し、今後の調査徹底への資料作りを行なう。
- 3) 野生株ポリオウイルス実験室封じ込めのための基本資料についての情報提供を行うとともに、病原体取扱いの専門家

に対する詳細なアンケート調査を実施する。

- 4) 特定の地域におけるポリオウイルスおよびエンテロウイルス伝播の実態を明らかにするため、中国雲南省のAFPサーベイランス下で分離された非ポリオエンテロウイルスの解析を行う。
- 5) 西太平洋地域において、AFP および他のサーベイランスにより検出されたポリオウイルスのうち、ワクチン由来ポリオウイルス(VDPV)について疫学およびウイルス学的解析を行う。
- 6) ポリオウイルス個体内および個体間伝播を解析するための動物実験モデルを開発するため、ポリオウイルスレセプターを発現しI型インターフェロンレセプターをノックアウトしたマウス感染実験系の開発・評価を行う。
- 7) ポリオウイルス疑似粒子を用いて、ポリオウイルス感染による持続的麻痺を反映する動物実験モデルを開発する。

B. 研究方法

- (1) ポリオウイルス野生株保有施設の再調査の対象を自然科学系のうち環境科学・生命科学などに関連深い医学・薬学・農学・理学・工学とし、平成17年度全国大学一覧に編纂されている新規分類に則って整理した。
- (2) 日本で発表されたポリオウイルスに関

わる研究論文について網羅的に解析するため、データベースを用いたキーワード検索を行い、施設、論文形式、論文内容等の各項目について年度ごとに集計した。

(3) Global Action Plan for Laboratory Containment of Wild Polioviruses (Second edition, 2004)全編の日本語訳を作成し、日本ウイルス学会学術誌「ウイルス」に掲載することにより野生株ポリオウイルス実験室封じ込めの基本的情報の周知を図った。

(4) 地方衛生研究所における病原微生物の取扱いに関する調査の一環として、「ポリオウイルスおよびポリオウイルスを含む可能性のある検体の保管状況に関するアンケート調査」を実施した。

(5) 中国雲南省 AFP 患者の糞便材料から常法に従い便乳剤を調製し、エンテロウイルスを分離した。ポリオウイルス以外のウイルスについて VP1 領域の部分塩基配列を決定し、塩基配列によるエンテロウイルス同定および分子系統解析を行った。

(6) ラオスの AFP 症例由来のポリオウイルスの型内鑑別を行い、VDPV の可能性がある分離株については、ウイルスゲノムの VP1 領域全長の塩基配列を解析した。VDPV が分離された場合は、当該地域の接触者から便検体を採取し、ウイルス分離を試みた。

(7) Ifnar KO マウスと PVR-tg マウスを交配し、PVR-tg/Ifnar KO マウスを作成した。PVR-tg マウスと PVR-tg/Ifnar KO マウスにポリオウイルス I 型 Mahoney 株を経口接種し病原性の強さを調べた。

(8) PVR-tg ならびに PVR-tg/Ifnar KO マウスにおけるウイルス接種前後の組織から RNA を調製し、IFN-stimulated gene (ISG) の発現レベルの変化を調べた。

(9) 293T 細胞で作製した、感染性を有しないポリオウイルス擬似粒子を、TgPVR21 マウスに脊髄内接種し、マウス脊髄内における replicon の複製および誘導される麻痺を観察した。

【倫理面についての配慮】

本研究で用いた臨床材料の採取は、「疫学

研究における倫理指針」に基づき、材料提供者および家族の個人の尊厳及び人権の尊重、個人情報保護に配慮して実施した。

すべての動物実験は、動物福祉、実験倫理、飼育環境に出来る限り配慮した上で、「動物の愛護及び管理に関する法律」「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」「国立感染症研究所動物実験委員会規程」等に基づいて実施した。

組換え生物使用実験は、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づいて実施した。文部科学大臣の確認が必要とされている組換え生物実験については、事前に「第二種使用等拡散防止措置確認申請書」を提出し、文部科学大臣から使用する感染動物施設が適切な拡散防止措置を満たすことの承認を受けたうえで実施した。

C. 研究結果

(1) 大学とその付属機関、共同利用機関などの統廃合により、全国教育・研究機関の整備が行なわれたため、調査対象についても再整理が必要になった。そのため、調査の対象を自然科学系のうち環境科学・生命科学などに関連深い医学・薬学・農学・理学・工学とし、新規分類に則って整理した。

(2) ポリオウイルス関連研究論文の分析により、日本では、多くの施設の研究者からポリオウイルス関連研究論文が公表されていることが明らかとなった。当該研究者が所属する研究施設は、大学、大学付属研究施設、病院、地方衛生研究所、その他、国立および民間の研究機関等多岐に亘っており、広範なテーマの研究が実施されていることが明らかとなった。

(3) 野生株ポリオウイルス実験室封じ込めのための基本資料となっている Global Action Plan for Laboratory Containment of Wild Polioviruses (Second edition, 2004)全編の日本語訳を行い、日本ウイルス学会学術誌「ウイルス」に掲載することにより基本的情報の周知を図った。

(4) 「病原微生物の取扱におけるバイオセー

フティの強化及びバイオセキュリティシステムの構築に関する研究」研究班による、地方衛生研究所へのアンケート調査おける追加調査項目として、ポリオウイルス実験室封じ込めについてのアンケートを作成し、各地方衛生研究所宛に送付した。今後、調査結果についてのとりまとめを実施する。

(5) 雲南省の AFP 患者から 210 株のウイルスが分離された (17.2%)。うち HEV-A、B、C 群に属する分離株は各 5、158、32 株であった。

(6) 雲南省の AFP 患者から分離された HEV-C は CA17,18,20,24,EV96 に分類された。ポリオウイルスとの塩基の違いは 32.9-41.3% であり比較的近縁であった。

(7) 2004-2005 年に、ラオスの AFP 症例 1 例と接触者 2 名から分離された 2 型ポリオウイルスは、型内鑑別の結果、親株である Sabin 2 型と比較して 1.1-1.3% 変異を有する 2 型 VDPV と同定された。ラオスでは、OPV 接種率が低い地域が存在することから、それらの地域では VDPV 伝播のリスクが高いことが示唆された。

(8) PVR-tg マウスと PVR-tg/Ifnar KO マウスを比較すると、腹腔内接種、静脈内接種においては PVR-tg/Ifnar KO マウスはウイルス感受性が非常に高くなっていた。PVR-tg マウスはこれまで経口感染が殆ど成立しなかったが、 10^6 PFU のウイルスで約半数の PVR-tg/Ifnar KO マウスで麻痺発症が見られた、IFN 応答のできない状況では経口感染の効率が上昇することが示された。

(9) 消化管では他の内臓組織と比較し ISG の発現レベルが高く、Ifnar KO マウスにおいても、高いレベルの発現が見られた。ポリオウイルス経口感染効率には、IFN シグナリングと無関係に発現して抗ウイルス状態に寄与している遺伝子群が関与することが推測された。

(10) 293T 細胞を用いたポリオウイルス擬似粒子の新しい作製方法により、非常に高い力価の擬似粒子を産生することに成功した。得られた擬似粒子は、弱毒 Sabin 1 株と同程度の力価を示した。

(11) ポリオウイルス擬似粒子 1.5×10^6 CCID₅₀ を TgPVR21 に接種した場合、接種したマウスの後肢に持続的かつ非致死的な弛緩性麻痺が観察された。一方、Sabin 1 株を脊髄内接種した場合は、致死的な麻痺を生じた。擬似粒子を脊髄内接種することにより、持続的かつ非致死的な弛緩性麻痺を TgPVR21 マウスに誘導できることが示された。

D. 考察

(1) 本年度の研究により、大学とその付属機関等、ポリオウイルス保有施設調査対象についても再整理を行い、再調査の対象を明らかにした。今後、ポリオウイルス関連研究論文の分析結果も併せて、より精度の高いポリオウイルス保有施設調査を実施し、第一段階調査を完了する。

(2) 地方衛生研究所の病原微生物取扱の専門家を対象としたポリオウイルス実験室封じ込めに関するアンケート調査を実施した。専門家以外を対象としたポリオウイルス保有状況調査を効果的に実施するために必要とされるアンケート内容の改善点を明確にすることが期待できる。

(3) 雲南省の AFP 患者から分離された非ポリオエンテロウイルスの解析により、AFP サーベイランス下では HEV-B の分離が最も多く、しかも 34 血清型以上存在していることが明らかになった。ポリオウイルスと系統的に近い C 群も多様性に富んで存在していた。臨床像の詳細な検討及び検出法の設定など今後の課題である。

(4) ラオスで、AFP 症例および接触者から分離された 2 型は遺伝学的に近縁であり、ワクチン接種率の低い地域における VDPV 伝播の可能性が強く示唆された。OPV キャンペーン以降、VDPV は検出されておらず伝播は終息したものと考えられるが、VDPV 伝播を効率よく検出するためのサーベイランスと実験室診断法について再検討が必要である。

(5) PVR-tg マウスと PVR-tg/Ifnar KO マウスを比較すると、腹腔内接種、静脈内接種

においては PVR-tg/Ifnar KO マウスは感受性が非常に高くなっていたが、経口感染の効率はヒトほど高くない。Ifnar KO マウスにおいても経口感染効率が十分に高くない理由は IFN シグナリングと無関係に発現している遺伝子群によるものであると推測されるが、マウスとヒトの経口感染効率の違いを説明するためにはさらに詳しい解析を必要とする。

(6) ポリオウイルス擬似粒子を TgPVR21 マウスに脊髄内接種することにより、持続的かつ非致死的な弛緩性麻痺を誘導する系を確立した。本研究で開発した感染モデルは、ウイルス伝播を伴わない動物実験モデルとして、残存性ポリオ麻痺およびポリオ後症候群の病態および治療法の開発に有用であると考えられる。

E. 結論

日本における野生株ポリオウイルス保管調査のための効率的でより精度の高い調査手法を検討し、保有施設再調査のための基盤情報を整備した。野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する WHO 行動計画に基づき、実験室封じ込めの重要性について周知を図り、地方衛生研究所の病原体取扱いの専門家に対する詳細な実態調査を実施した。様々なレベルの調査を組みあわせることにより、調査精度を改善するとともに、野生株ポリオウイルス封じ込めの重要性を周知することが出来た。

ポリオ根絶最終段階において重要とされる VDPV を含むポリオウイルス伝播を感度良く検出するためのサーベイランスシステム(AFP、環境、感染源調査、ポリオ、非ポリオエンテロウイルス等)の評価を行い、様々なサーベイランスを組み合わせることで、感度の高いポリオウイルス伝播の検出が可能であることを示した。

ポリオウイルス伝播を解析するための *in vivo* 実験系の開発を行った。ポリオウイルスの個体内及び個体間伝播のメカニズムを研究するための *in vivo* 感染実験モデルの開発を行い、効率よく経口感染可能なマウス感

染モデルを開発するとともに、ポリオウイルス組織特異性および病原性を解明するための新たな知見を得ることが出来た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Arita M, Shimizu H, Nagata N, Ami Y, Suzaki Y, Sata T, Iwasaki T, Miyamura T: Temperature-sensitive mutants of enterovirus 71 show attenuation in cynomolgus monkeys. *J Gen Virol* 2005; 86: 1391-1401.
- 2) Huang QS, Greening G, Baker MG, Grimwood K, Hewitt J, Hulston D, van Duin L, Fitzsimons A, Garrett N, Graham D, Lennon D, Shimizu H, Miyamura T, Pallansch MA: Persistence of oral polio vaccine virus after its removal from the immunisation schedule in New Zealand. *Lancet* 2005; 366: 394-396.
- 3) Arita M, Zhu SL, Yoshida H, Yoneyama T, Miyamura T, Shimizu H: A Sabin 3-derived poliovirus recombinant contained a sequence homologous with indigenous human enterovirus species C in the viral polymerase coding region. *J Virol* 2005;79:12650-12657.
- 4) Yang CF, Chen HY, Jorba J, Sun HC, Yang SJ, Lee HC, Huang YC, Lin TY, Chen PJ, Shimizu H, Nishimura Y, Utama A, Pallansch M, Miyamura T, Kew O, Yang JY: Intratypic recombination among lineages of type 1 vaccine-derived poliovirus emerging during

- chronic infection of an immunodeficient patient. *J Virol* 2005; 79: 12623-12634.
- 5) Ida-Hosomuma M, Iwasaki T, Yoshikawa T, Nagata N, Sato Y, Sata T, Yoneyama M, Fujita T, Taya C, Yonekawa H, Koike S. Alpha/beta interferon controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J Virol* 2005; 79: 4460-4469.
 - 6) Miyachi S, Lu X, Inoue S., Iwasaki T., Koike S, Nambu A, Takada M, Organization of multisynaptic inputs from prefrontal cortex to primary motor cortex as revealed by retrograde transneuronal transport of rabies virus. *J Neuroscience* 2005; 25: 2547-2556.
 - 7) Yoshika T, Iwasaki T, Ida-Hosonuma M, Horie H, Yoneyama M, Fujita T, Miyazawa M, Abe S, Simizu B, Koike S. Role of alpha/beta interferon in the acquisition of susceptibility to poliovirus by kidney cells in culture. *J Virol* (in press)
 - 8) Kuramitsu M, Kuroiwa C, Yoshida H, Miyoshi M, Okumura J, Shimizu H, Narantuya L, Bat-Ochir D: Non-polio enterovirus isolation among families in Ulaanbaatar and Tov province, Mongolia: prevalence, intrafamilial spread, and risk factors for infection. *Epidemiol Infect* 2005; 133: 1131-1142.
 - 9) 清水博之、ヒトエンテロウイルスの分類と命名法、臨床とウイルス 34, 211-219, 2005
 - 10) 清水博之、ポリオウイルス感染症の実験室診断、日本臨床 63,372-375 2005
 - 11) 清水博之、非ポリオウイルス感染症の実験室診断、日本臨床 63,377-381 2005
 - 12) 岩井雅恵、松浦久美子、長谷川澄代、小原真弓、堀元栄詞、永井美之、田中有易知、吉田弘、清水博之: ポリオ流行予測調査感染源調査においてワクチン由来ポリオウイルスが検出された一例について. 富山県衛生研究所年報 28, 80-84, 2005
 - 13) 清水博之、武田直和、宮村達男: ポリオワクチン、臨床と微生物 32:441-444, 2005
 - 14) 小池 智 ポリオウイルスのトロピズムに関するインターフェロン応答実験医学 23:2602-2608. 2005
 - 15) 清水博之、吉田 弘、宮村達男: 野生株ポリオウイルス実験室封じ込めに関する WHO 世界的行動計画第 2 版、ウイルス 55:161-178, 2005
- ## 2. 学会発表
- 1) Arita M, Zhu SL, Yoshida H, Yoneyama H, Miyamura T, Shimizu H: A type 3 poliovirus recombinant contains a sequence highly homologous with indigenous human enterovirus species C in viral polymerase coding region. EUROPIC 2005 XIIIth Meeting, Lunteren, Netherlands, May 23-29, 2005.
 - 2) Shimizu H, Utama A, Nishimura Y, Miyamura T: Construction and characterization of chimeric polioviruses between a type 1 vaccine-derived poliovirus and species C enteroviruses. *ibid.*
 - 3) Shimizu H: Surveillance,

- epidemiology and laboratory diagnosis for enterovirus infections. Emerging and Re-emerging Infectious Disease Symposium, Taipei, June, 2005.
- 4) Shimizu H: Vaccine-derived polioviruses - current understanding and the implication for laboratory diagnosis. Seminar on Eradication of Vaccine Preventable Diseases (II), Kumamoto, July, 2005.
 - 5) Shimizu H: Epidemiology and Genetic Analysis of Vaccine-derived Polioviruses, International Symposium on Emerging and Re-emerging Enteric Viral Diseases, Seoul, Dec. 2005
 - 6) Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Yoshikawa T, Nagata N, Sata T, Yoneyama M, Fujita T, Taya C, Yonekawa H, Koike S. Type I interferon response is an important determinant of poliovirus tissue tropism., XIIIth Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses, Lunteren, Netherlands, May 23-29, 2005
 - 7) Yoshikawa T, Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Nagata N, Sato Y, Sata T, Yoneyama M, Fujita T, Taya C, Yonekawa H, Koike S. Role of type I interferon in tissue and cell tropism of poliovirus, The XIIIth International Congress of Virology, San Francisco, July 26, 2005
 - 8) 清水博之、宮村達男、ワクチン由来ポリオウイルスによるポリオ流行、日本感染症学会総会、名古屋、2005年4月
 - 9) 宮村達男、清水博之、ポリオ根絶計画の進展とポリオワクチン戦略、日本感染症学会総会、名古屋、2005年4月
 - 10) 西村順裕、有田峰太郎、吉田 弘、小島和暢、清水博之、宮村達男ラオスのAFP 症例より分離された2型ワクチン由来ポリオウイルス、日本ウイルス学会学術集会、2005年10月
 - 11) 清水博之、カニクイザル感染モデルによるエンテロウイルス71神経病原性の解析、「サルを用いた感染症研究」の現状と今後、京都、2005年9月
 - 12) 吉河智城、岩崎琢也、細沼美樹、宮沢美和子、安部忍、清水文七、小池智、初代培養腎細胞のポリオウイルス感受性獲得へのI型インターフェロンの関与、第53回日本ウイルス学会学術集会、パシフィコ横浜、2005年11月
 - 13) 小池智、I型IFN 応答に依存したポリオウイルスの標的組織決定機構、第53回日本ウイルス学会学術集会、パシフィコ横浜、2005年11月
 - 14) 小池智、ポリオウイルスの感染特異性を支配する宿主因子、第28回日本分子生物学会年会、福岡、2005年12月
 - 15) 小池智、I型インターフェロン応答に依存したポリオウイルスの標的組織決定、第9回日本神経ウイルス研究会、浜松、2005年6月
 - 16) 小池智、I型インターフェロン応答に依存したポリオウイルスの標的組織決定、第70回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、京都、2005年7月
 - 17) 小池智、ポリオウイルスの感染と自然免疫応答、感染現象のマトリックス基盤研究(C) (企画調査)「感染現象のマトリックス的解明をめざす企画調査研究」、東京、2006年2月
 - 18) 小池智、ポリオウイルス感染の特異性決定と自然免疫、ウイルス感染と自然免疫応答：その役割とメカニズム 特定領域研究「感染の成立と宿主応答の分子

基盤」支援 基盤研究(C)「感染現象の研究マトリックスを構築するための企画調査研究」共催，福岡、2005年12月

H.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

野生株ポリオウイルス保有状況と管理状況に関する調査 についての研究

分担研究者 宮村達男 (国立感染症研究所)
協力研究者 小松俊彦 (バイオメディカルサイエンス研究会)

A. 研究目的

小児にとって悲劇的疾患であるポリオの根絶は、WHO が掲げる疾病対策のなかで最も重要な課題の一つである。今日までの衛生向上についての管理やワクチン接種の徹底などが功を奏し、多くの国ではポリオの流行は鎮静化している。日本国内においても半世紀来患者発生の報告は無い。

しかしナイジェリアとその周辺国では未だ野生株ウイルスによる自然流行が続いている。加えて、人為的には、生ワクチン接種後の毒性復帰ウイルスによる流行の可能性や実験室内保有ウイルス漏出による事故的患者発生が危惧される。ポリオ根絶計画の基礎として、現行生ワクチンの見直しと実験室内封じ込めの徹底が求められている。

こうした状況の下、日本では実験室内野生株ポリオウイルスの保有状況と管理状況を把握するために第一段

階調査(Phase I)を2003～2004年度に実施した。

その後、大学とその付属機関、共同利用機関などの統廃合によって全国教育・研究機関の整備が行なわれたことにより、調査対象についても再整理が必要になった。そのため、2005年度は、文部省管轄機関に対して、1) 調査対象の再選定、および、2) ポリオウイルス関連研究論文発表状況の分析を実施し、今後の調査徹底への資料作りを行なった。

B. 研究方法

1) 再調査対象の選定

調査の対象を自然科学系のうち環境科学・生命科学などに関連深い医学・薬学・農学・理学・工学とし、平成17年度全国大学一覧(発行所;財・文教協会平成17年8月10日)に編纂されている新規分類に則って整理した。

調査の結果の正確さを期すため、調

査依頼書は大学の最高責任者：学長宛に発送する。又各学部長、更に付属病院を設置している大学へは学長と病院長との両者宛に依頼書を発送する。

2) 調査期間

調査対象へのアンケート用紙発送時期を含めて、厚生労働省の指示に従って実施する。

3) ポリオウイルス関連研究論文の分析

日本で発表されたポリオウイルスに関わる研究論文について網羅的に解析するため、検索対象資料として医学中央雑誌等のデータベースを用い、検索キーワードとして、「ポリオウイルス」による検索を行い、施設、論文形式、論文内容等の各項目について年度ごとに集計した。

C. 研究結果および考察

WHOにより進められている、野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画では、最新かつきめの細かい野生株ポリオウイルス保有施設リストの作成の重要性が指摘されており、保有施設リストの更新のためには、定期的な再調査が必要となる。最近、大学とその付属機関、共同利用機関などの統廃合により、全国教育・研究機関の整備が行なわれたた

め、調査対象についても再整理が必要になった。そのため、調査の対象を自然科学系のうち環境科学・生命科学などに関連深い医学・薬学・農学・理学・工学とし、新規分類に則って整理した(表1)。今後、再調査対象検索の結果に基づき、アンケート用紙を作成し発送する必要がある。さらに調査結果に基づいた回答内容の確認・分析・集計により、野生株ポリオウイルス保有施設リストの更新を行い、WHOによる第一段階調査(Phase I)を完了する。

データベースを利用したポリオウイルス関連研究論文の分析により、日本では、多くの施設の研究者からポリオウイルス関連研究論文が公表されていることが明らかとなった。ポリオウイルス関連研究論文を発表している研究者が所属する研究施設は、大学、大学付属研究施設、病院、地方衛生研究所、その他、国立および民間の研究機関等、多岐に亘っており(表2-1, 2-2)、広範なテーマの研究が実施されていることが明らかとなった(表2-3)。かつてポリオウイルスを用いた研究を実施していた施設においては、現在でも野生株ポリオウイルスを保有している可能性を否定できないため、今後、公表された論文の内容を解析することにより、より精度の高い調査を実施することが可能であると考えられた。

また、2003～2004年度の第一段階調

査の結果により、既に野生株ポリオウイルスを保有すると回答している個々の機関・施設(表 3)に対し、その後の保管・管理状況を把握するための再調査を行があると考えられる。尚、この再調査は、大学、研究機関の統廃合に伴う保有状況に関する追跡調査をも兼ねる。

今後、野生株ポリオウイルス保有施設リスト作成の進展に伴い、ポリオウイルスに関する研究を行なっている研究者が、直接アンケート用紙を受信—返信(回答)する方式により、より精度の高い調査を行うことが必要となると考えられる。対象となる研究施設および研究者の選定は、第一段階調査の結果およびポリオウイルス関連研究論文発表施設を参考にする。さらに、第2段階調査以降の状況も踏まえて、野生株ポリオウイルス保有施設の実態とポリオウイルス野生株の取扱いについて、当該研究施設および研究

者と十分な情報交換を行う必要がある。

D. 結論

大学とその付属機関、共同利用機関などの統廃合により、全国教育・研究機関の整備が行なわれたため、野生株ポリオウイルス保有施設再調査の対象についても再度整理が必要になった。本年度は、調査の対象を再整理したので、この結果に基づき、アンケート用紙を再度作成し、発送する必要がある。その際、ポリオウイルス関連研究論文を発表している研究者が所属する研究施設への確認調査は、野生株ポリオウイルス保有施設調査の精度を上げる上で重要であると考えられた。調査結果に基づいた回答の分析・集計により、野生株ポリオウイルス保有施設リストの更新を行い、WHO による第一段階調査(Phase I)を完了する。

表 1. 調査対象施設選定結果

	大学関連数	大学関連選定数	大学関連調査対象数 (アンケート発送延べ 学部、研究科など)
総数	899	319	<u>463</u>
内訳			
(1) 大学			
国立	87	57	158
公立	73	22	30
私立	555	103	138
(2) 立大学附置研究所	59	11	11
(3) 大学附属病院	121	121	121
(4) 大学共同利用機構	4	5	5

表 2. ポリオウイルス関連研究論文の分析

<u>1. 論文数</u>	2005/03/01～2006/2/28	1990/01～2005/03
総数	<u>17</u>	350
内訳		
(1) 大学関連		
国立大学	2	99
公立大学	1	
私立大学	2	0
国立大学附置研究所	1	31 (病院を含む)
大学附置病院		
国立	0	
公立	0	
私立	0	
大学共同利用機構	0	
(2) 研究機関		
国立	6	46
公立	0	
民間	0	14
(3) 都道府県衛生・環境 研究所 (保健所を含む)	3	122
(4) 病院機構		
国立	2	20
公立	0	
民間	0	6
(5) その他	0	12 (国外投稿)

2. 論文形式

	2005/03/01～2006/2/28	1990/01～2005/03
総数	17	350
<hr/>		
内訳		
<hr/>		
(1) 総説	1	12
(2) 解説	8	66
(3) 原著	2	164
(4) 会議録	6	107
(5) その他	0	1 (症例報告)

3. 原著論文、会議録のテーマ分析

	2005/03/01～2006/2/28	1990/01～2005/03
論文・会議録数	8	271
<hr/>		
内訳		
(1) 分離ウイルス型分類・性状分析		
人由来（ワクチン投与後を含む）	3	32
環境由来（河川など）		12
(2) 疫学的調査	1	71
(保有抗体のウイルス型同定を含む)		
(3) 感染・発症・病理	0	69
(実験モデルの開発を含む)		
(4) ワクチン研究・開発	1	4
(安定化剤を含む)		
(5) 抗ウイルス物質	0	10
(不活化剤を含む)		
(6) ウイルス検出法	0	8
(診断法を含む)		
(7) その他	3	65
(Theiler virus, 種々ウイルス性疾患との関連など)		

表 3. 第一群調査結果による野生株保有機関・施設

分類	保有機関・施設数
国公立大学	6
私立大学	1
国立研究機関・施設	8
公立衛生研究所	1 2
検疫所	1
私立研究機関など	8

野生株ポリオウイルス実験室封じ込め調査についての研究

分担研究者： 清水博之（国立感染症研究所 ウイルス第2部）

協力研究者： 安藤秀二（国立感染症研究所 バイオセーフティ管理室、ウイルス第1部）

研究要旨 野生株ポリオウイルスの世界的根絶が間近となり、WHOは「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画（第2版）」を策定し、全世界で統一された基準のもと、ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めを進めている。日本では、病原性微生物取扱の専門家の間でも必ずしも周知されていない、ポリオウイルス野生株の定義やポリオウイルス実験室封じ込めの世界的基準を明確にするため、「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画（第2版）」全編を翻訳し、これを基礎資料とすることにより地方衛生研究所に対してポリオウイルス実験室封じ込めについてのアンケート調査を実施した。アンケート調査結果についてとりまとめ、今後のポリオウイルス保有状況調査の改善点を明確にする。

A. 研究目的

野生株ポリオウイルスの世界的根絶が間近となり、ポリオウイルスの実験室封じ込めについて具体的な行動が求められている。そのため、WHOは「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画（第2版）」を策定し、全世界で統一された基準の下、ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めを進めることを提唱している。日本ではまだ、WHOの策定した基準による、ポリオウイルス野生株保有施設のリスト作成段階（Phase I）が終了しておらず、速やかなリスト作成が求められている。そのため、必ずしも周知されていないポリオウイルス野生株の定義やポリオウイルス実験室封じ込めの世界的基準

を明確にするため、地方行政における実験室検査の中心的施設である地方衛生研究所に対し、ポリオウイルス実験室封じ込めについてのアンケート調査を実施することとした。本調査は、地方衛生研究所が、ポリオウイルス（野生株、ワクチン由来株、その他）を保有している可能性について、精度の高い調査を行うことを目的としていると同時に、ポリオウイルス野生株の定義やポリオウイルス実験室封じ込めの世界的基準を日本の病原微生物取扱の専門家に周知することにある。

B. 研究方法

WHOにより作成され、野生株ポリオウイルス実験室封じ込めのための基本資料となっ

ている Global Action Plan for Laboratory Containment of Wild Polioviruses (Second edition, 2004) 全編の日本語訳を行い、日本ウイルス学会学術誌「ウイルス」に掲載することにより野生株ポリオウイルス実験室封じ込めの基本的情報の周知を図った([野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画(第2版)], ウイルス 55, p161-178, 2005)。

さらに、厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)「病原微生物の取扱いにおけるバイオセーフティの強化及びバイオセキュリティシステムの構築に関する研究」研究班により計画されていた地方衛生研究所における病原微生物の取扱いに関するアンケートの追加調査として、「ポリオウイルスおよびポリオウイルスを含む可能性のある検体の保管状況に関するアンケート調査」を実施することとした。

C. 研究結果と考察

「病原微生物の取扱いにおけるバイオセーフティの強化及びバイオセキュリティシステムの構築に関する研究」研究班による、地方衛生研究所へのアンケート調査における追加調査項目として、添付資料1に示したポリオウイルス実験室封じ込めについてのアンケートを作成し、2006年2月初旬に各地方衛生研究所宛に送付した。アンケート内容についての問い合わせが、数カ所の各地方衛生研究所担当者から寄せられ、電話や電子メール等により個別に回答した。2003年3月下旬段階で、多くのアンケートが回収出来て

おり、今後、調査結果についてのとりまとめを実施する。病原微生物取扱いの専門家に対する今回のアンケート調査結果により、今後、より広範囲な専門家以外を対象としたポリオウイルス保有状況調査を効果的に実施するために必要とされるアンケート内容の改善点を明確にすることが期待できる。

D. 結論

病原性微生物取扱いの専門家の間でも必ずしも周知されていない、ポリオウイルス野生株の定義やポリオウイルス実験室封じ込めの世界的基準を明確にするため、「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画(第2版)」全編を翻訳し、これを基礎資料とすることにより、地方衛生研究所に対してポリオウイルス実験室封じ込めについてのアンケート調査を実施した。今後、アンケート調査結果をとりまとめ、実効性のあるポリオウイルス保有状況調査に必要とされる改善点を明確にする。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimizu H, Thorley B, Paladin FJ, Brussen KA, Stambos V, Yuen L, Utama A, Tano Y, Arita M, Yoshida H, Yoneyama T, Benegas A, Roesel S, Pallansch M, Kew O, Miyamura T. Circulation of type 1 vaccine-derived poliovirus in the