

総合研究報告書

血液製剤の安全性確保と安定供給のための新興・再興感染症の研究

(H23-医療-一般-003)

研究代表者：倉根一郎(国立感染症研究所 副所長)

研究要旨：

献血の安全性確保と安定供給のため、変異型プリオン病、シャーガス病、バベシア症およびウエストナイルウイルス等のフラビウイルスを対象として検査法・スクリーニング法等の開発、媒介蚊に関する研究を行った。

変異型プリオン病研究について、白血球除去フィルターによる異常プリオンの除去効果を検討した。また、エキソソーム精製試薬を用いて異常プリオンが濃縮された。貯留前白血球除去法と初流血除去に関し、報告データを用いた解析を行った。

シャーガス病については東海四県において同意を得た中南米居住歴を有する献血申込者に対し *T. cruzi* 抗体検査を実施した。シャーガス病の感染リスクのある環境にあった献血者が存在することも明らかとなった。また、*T. cruzi* 抗体陽性者の存在が明らかとなった。

バベシア症については、遺伝子診断法の LAMP および簡易・迅速血清診断法であるイムノクロマト法を開発し、動物検体を用いて基礎研究を行った。さらに、ヒト血液試料を用いてその有用性の確認を行った。

ウイルス媒介蚊については、ヒトスジシマカとアカイエカの分散範囲を推定した。ヒトスジシマカは、観察された1日の最長移動距離は92mであった。ヒトスジシマカの最大分散範囲を、野外調査により得られた成虫の最長余命40.8日と1日当たり最大移動距離92mの積によって、3,753.6mと推定した。一方、アカイエカは吸血後数日間に少なくとも350m移動した。

フラビウイルス遺伝子検出法の感度を増加させる目的で Flap RT-PCR 法の開発を行った。Flap RT-PCR 法が、フラビウイルス共通プライマーやアルファウイルス共通プライマーでは検査法の感度を増加させた。

研究分担者：

岡田義昭(埼玉医科大学血液・細胞移植部
部長)

田島 茂(国立感染症研究所ウイルス第一

部 主任研究官)

津田良夫(国立感染症研究所昆虫医科学部
室長)

三浦左千夫(慶応大学医学部熱帯医学寄生

虫学教室 非常勤講師) (平成 23 年度)
百瀬俊也 (日本赤十字社関東甲信越ブロッ
ク血液センター 部長)
横山直明 (帯広畜産大学原虫病研究センタ
ー 准教授)

研究協力者:

五十嵐滋 (日本赤十字社血液事業本部課長)
沖 学 (日本赤十字社血液管理センター
課長)
高松純樹 (日本赤十字社東海北陸ブロッ
ク血液センター所長)
鬼束惇義 (岐阜県赤十字血液センター所長)
南澤孝夫 (静岡県赤十字血液センター所長)
濱口元洋 (愛知県赤十字血液センター所長)
岡田昌彦 (三重県赤十字血液センター所長)
小島 精 (前、三重県赤十字血液センター
所長)
内田茂治 (日本赤十字社血液事業本部中央血
液研究所部長)
三浦左千夫 (日本赤十字社血液事業本部客
員研究員) (平成 24, 25 年度)
平 力造 (日本赤十字社血液事業本部課長)
古居保美 (日本赤十字社血液事業本部 安
全管理課)
五井 薫 (日本赤十字社血液事業本部安全
管理課)
石野田正純 (日本赤十字社血液事業本部安
全管理課)
高橋 勉 (日本赤十字社血液事業本部安全
管理課)
古澤秀明 (日本赤十字社血液管理センター
検査課)

A. 研究目的

近年、ヒトや物の国際間の頻繁な移動に

よって感染症が拡大し、これまで日本には
存在しなかった病原体が国内に持ち込まれ
る可能性がある。国内でウエストナイル熱
やデング熱等が発生した場合、スクリーニ
ング法の導入の他に早期に適切な献血制限
地域を設定し、一方で必要な献血量を確保
しなければならない。これらの感染症は蚊
が媒介するため、蚊の種類や行動範囲、蚊
の生態などを基盤に献血制限地域を設定す
る必要も出てくる。シャーガス病は南米に
流行する慢性の感染症である。南米居住歴
を有する献血者の抗体保有率等の実態を明
らかにすることで輸血の安全性に貢献する。
バベシア症については検査法の確立を進め
る必要が生じている。異常プリオンに関し
ては、定量性の良い異常プリオンの培養系
を確立し、さらに血液からの簡便な除去法
の確立と評価系を作る必要がある。本研究
は、以上のように、種々の病原体に関して、
検査法開発や検査情報を科学的知見から検
討することによって献血の安全性確保と
安定供給に貢献することを目的とする。

B. 研究方法

1. 変異型プリオン病に関する研究:

1) 白血球除去フィルターによる異常プリオ
ンの除去:

ウシ海綿状脳症を発症したウシの脳乳剤
を用いて異常プリオンを感染させたヒト
glioma 細胞株の培養上清にキレート剤を添
加後、0.5mL を 5% アルブミン 200mL に加え
た。これを白血球除去フィルターのバッグ
に注入しよく混合した。1 部を除去前の検
体として採取した。仕様書に従って白血球
除去フィルターで濾過した。フィルターを
通した溶液は処理後の検体として採取した。

(2) エキソソームの精製法と異常プリオンの検出:

マウス白血病ウイルスと異常プリオンが重感染したヒト腎癌細胞株の培養液を 10mL 取り、3000g で 15 分遠心し、上清に ExoQuick-TC (System Biosciences 社) 2mL を添加した。混合し 4 にて 14 時間以上静置後、1500g で 30 分遠心し 沈殿を得た。

2. 国内外でのシャーガス病キャリアーの把握と献血対策に関する研究:

中南米地域からの定住者が多い東海四県 (愛知県、静岡県、岐阜県、三重県) における献血申込者のうち中南米滞在歴を有する献血希望者に対し、予め献血会場に用意された本調査研究の説明書及び同意書を渡し、その内容を理解し同意書に署名した者を対象とした。併せて出身地、シャーガス病に関する認知度等に関し回答を得た。別に検体を採血し、愛知県赤十字血液センターにてイムノクロマト法 (STAT-PAK®) 迅速検査を実施した。ELISA 法 (ORTHO® *T. cruzi* ELISA TEST System) 及びイムノクロマト法 (*Trypanosoma Detect*®) 迅速検査による *T. cruzi* 抗体検査を実施した。

また、在日ラテンアメリカ人集住地域において NPO、ブラジル領事館などの協力の基で調査研究参画への同意書が得られた人々を対象に抗体検査を行った。ラテンアメリカ人集住地域医療機関から検査依頼を受けた血清を用いて病原体 *T. cruzi* に対する IgG 抗体の有無をクロマト法、IFA、ELISA 法 PCR 法及び LAMP 法で調べた。さらに、既存の抗体検出キット (試験研究用) を用いて、それぞれの利便性、信頼性について検討した。

3. バベシア症に関する研究:

1) LAMP の開発

B. microti 18s ribosomal DNA (rDNA) の遺伝子情報を基に、LAMP 用のプライマー 4 種類 (FIP、BIP、F3、及び B3) を設計し、遺伝子増幅の条件検討を行った。また、*B. microti*、*Anaplasma*、*Ehrlichia*、及び *Plasmodium falciparum* の DNA サンプルを用いて、LAMP の特異性ならびに感度についても検討を行った。

2) ICT の開発:

B. microti に特異的な BMN1-17 の組換え蛋白質を大腸菌に発現させ、SDS-PAGE およびウエスタンブロットを行い、組換え蛋白質の分子量と抗原性について検討を行った。次に異なる蛋白質濃度 (10~1,000 mg/ml) および pH (5.0~7.0) の条件検討を行い、rBMN1-17 抗原と金コロイド (50nm) への最適な標識条件の検討を行った。次に、得られた金コロイド標識 rBMN1-17 蛋白質をサンプルパットに、rBMN1-17 蛋白質と抗ウサギ BMN1-17 蛋白質 IgG をニトロセルロース膜ヘジェット塗布し ICT ストリップを作製した。更に、ハムスターの陽性、陰性コントロール、アナプラズマやエールリキアの感染血清を用いて得られた ICT ストリップの特異性について検討を行った。

3) ヒト検体を用いた評価:

LAMP および簡易・迅速血清診断法であるイムノクロマト法 (ICT) について、ヒト血液試料を用いてその有用性を確認した。111 検体中、IFA により 61 検体が抗体陽性、50 例が抗体陰性であることが確認されている。市販の DNA 抽出キットにより DNA を精製した。また、エール大学より、60 検体の人血

清の提供を受けた。これらの血清は、インフォームドコンセントを実行して得られ。帯広畜産大学、神戸医療大学、エール大学の倫理委員会の承認を得て実施した。

4. フラビウイルス媒介蚊に関する研究：

1) ヒトスジシマカの移動分散範囲の推定：成虫の寿命と1日当たりの移動距離をマーキング実験によって求め、その積によって分散範囲の推定を行った。

2) 吸血飛来成虫の平均余命：東京都立林試の森公園で6月から11月の期間にヒトスジシマカの人囀採集を行った。採集されたヒトスジシマカの雌成虫を持ち帰り $26.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $58 \pm 0.9\%$ 、16時間日長に調節した飼育室で飼育し、すべての個体が死亡するまで死亡日と死亡個体数を毎日記録した。この調査結果に基づいて、野外捕集蚊の実験室内における平均余命を求めた。

3) マーキング実験による移動距離の測定：ヒトスジシマカが1日の間に動き回る範囲を知るために、1個体ずつ異なるマークを付けて放逐し、複数の採集場所で再捕獲を継続して行って、個体ごとに動いた軌跡を調べた。

4) 胸部への個体識別マーキング法の検討：翅にマークを行うことによるダメージが大きいと考え、ダメージが小さく抑えられる方法として胸部背面にマークする方法を検討した。

5) 野外における個体識別マーキング調査：2013年3月17日から3月27日の期間、石垣島の住宅街でマーキング実験を行った。蚊の採集は毎日8:00と14:00の2回行った。各採集場所に採集者一人が10分間とどま

り、吸血のために飛来する蚊を吸虫管で採集した。

6) アカイエカの吸血個体の移動分散に関する研究：本研究では野外で既に吸血した個体を採集し、その個体が保持していた動物血液からDNAを抽出し、吸血源となった動物を推定して、その動物のいた場所と採集場所の距離を吸血した蚊の移動分散距離の推定に用いた。

5. フラビウイルス感染検査診断に関する研究：

ウエストナイルウイルス(WNV)に関する研究においては、非感染性としたWNV液を希釈用血漿で希釈し、300、100、30、10、0 cps/mL濃度のウイルス添加血漿を作製し、TaqScreen®WNV Assay 試薬及び Procleix® WNV Assay 試薬を用いて NAT を各々27重測定した。また、実検体による試験として献血血液の NAT 用検体を用いて作製した20本プール NAT 検体で、HBV、HCV 及び HIV のスクリーニング NAT 陰性の240検体を2つのWNV 試薬を用いて3回に分けて測定した。

フラビウイルス遺伝子検出法の感度を増加させる目的でデングウイルスをモデルとして、Flap RT-PCR法の開発を行った。

(倫理面への配慮)

ヒト検体を用いる場合には、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針を遵守し、各研究機関における倫理委員会において承認を得た上で研究を遂行した。動物を用いる実験においては、各研究機関の動物実験委員会において審査し承認を得た上で行なった。

C. 研究結果

1. 変異型プリオン病に関する研究：

1) 血液からの異常プリオン除去法の開発：

フィルターによる除去前後の検体は、それぞれ 10 倍ずつの段階希釈を行い、 1×10^5 / well に撒いた異常プリオン非感染ヒト glioma 細胞株に感染させた。感染させた細胞は、2 回/週の頻度で継代し、サンプリングし、異常プリオンの感染の有無は感染 30 日後ウエスタンブロット法で解析した。異常プリオンを 5% アルブミンに添加し、白血球除去フィルターを通した検体からは、 10^{-3} に希釈して感染させた細胞からも異常プリオンは検出されなかった。一方、濾過前の検体からは 10^{-4} 倍希釈した検体まで異常プリオンが検出でき 2Log 以上除去できたと考えられた。

2) 初流血除去の効果の解析：

海外の輸血の専門雑誌と日本輸血細胞治療学会誌から初流血除去に関する文献検索を行ないその有効性を考察した。2001 年に Bruneau らは、採血した最初の血液 15mL とその次の 15mL をそれぞれ細菌培養し、最初の血液からの方が細菌培養が陽性になる率が高い事を報告した。日本においても名雲らが、初流血除去しない群 2967 検体と除去した群 2890 検体の細菌培養を行ない、除去なし群では 0.24% が陽性になったのに対し除去群では 0.07% だったことを報告した。同様に、Satake らは血小板採血時に初流血除去を行なったところ実施前の陽性率 0.17% が実施後 0.05% になったことを報告した。

2. 国内外でのシャーガス病キャリアーの把握と献血対策に関する研究：

東海4県の「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」献血者に対して、同意を得た上で、*Trypanosoma cruzi*抗体検査とシャーガス病に関するアンケート調査を実施した。(東海4県パイロットスタディ 期)平成25年1月8日～11月30日で、対象者は457人で、男性335人(73%)、女性122人(27%)、平均年齢35.1歳、67%が40歳未満の若い世代であり、献血回数については、初回献血者が42%であった。対象者の88%がブラジル出身、日本滞在年数は平均15.3年であった。また、幼少時の家の構造が土壁と回答した件数が3%、家族にシャーガス病と診断された者が1.5%と、シャーガス病の感染リスクのある環境にあった献血者がわずかではあるが存在することも明らかとなった。対象者457人のうち1人が*Trypanosoma cruzi*抗体陽性であった。*Trypanosoma cruzi*抗体陽性リスクを推計すると、全国で1年間に*Trypanosoma cruzi*抗体陽性となる献血者は5人以下と考えられた。

上記とは別に、在日ラテンアメリカ人集住地域における抗体検査を行った。平成24年度195名の抗体検査を行ない、5名が抗体陽性であった。うち、在日17年を経過するボリビア日系家族に先天性シャーガス病感染者が検出された。平成25年度272名の抗体検査を実施し、抗体陽性者は2名であった。抗体陽性者はいずれも50代の日系ブラジル人で、ブラジルの疫学的流行地の出身であった。

3. ヒトバベシア症に対する新規診断法の開発：

1) 実験感染マウスの試料を用いた real-time LAMP 法の評価：

real-time LAMP による標的遺伝子の定量化について検討したところ、検出時間と標的遺伝子のコピー数をプロットした結果、直線上の検量線が得られた。次に *B. microti* 感染マウスでは、血液塗沫による原虫の検出は実験感染 6 日目で 1%未満だったが、real-time LAMP 法による定量検出では 3 日目あるいは 4 日目から血中に含まれる微量の標的遺伝子を検出できることが示された。また、血液塗沫で検出できなくなった 28 日以降も real-time LAMP 法により感染の検出が可能であった。

2) 実験感染ハムスターの試料を用いた ICT の評価：

ハムスターに *B. microti* を感染実験させ、継時的に血液を採取して、血液塗沫標本のギムザ染色による赤血球寄生率の測定、IFAT、rBMN1-17 を用いた ELISA 及び ICT の抗体検出感度を比較した。赤血球寄生率は、実験感染後 5 日目に 1%を越えて急激に増加し、約 2 週間後にピークを迎えた後、8 週後に 1%以下に減少した。ELISA では、5 日目から抗体が検出され始め、1 週間ほどで急激に上昇してその後高い値を維持した。一方、ICT と IFAT では 7 日後から検出され始め、その後抗体が継続的に検出された。

3) ヒト検体を用いての評価

LAMP および簡易・迅速血清診断法であるイムノクロマト法 (ICT) について、人血液試料を用いてその有用性を確認することを目的とした。LAMP については神戸医療大学から提供を受けた 111 検体の人血液より DNA を抽出して検討を行った。その結果、抗体陽性を示した 61 検体中、LAMP で陽性を示した検体は 5 検体のみで、非常に検出

率が低かった。また、IFAT で陰性を示した 50 検体中、LAMP で陽性を示した検体が 1 例認められた。ICT については、エール大学より 60 検体の人血清を入手し、これらの血清を用いて、検討中を開始した。

4. フラビウイルス媒介蚊に関する研究：

ヒトスジシマカとアカイエカの分散範囲を推定した。東京都内の公園で 6 月から 11 月の期間にヒトスジシマカを採集し、実験室内における平均余命を求めたところ、最も短かったのは 9 月の採集雌で 13.8 日、最も余命が長かったのは、6 月の採集蚊で平均 40.8 日だった。林に生息するヒトスジシマカを対象として行われたマーキング実験結果から、1 日当たり移動距離を推定したところ平均移動距離は、 10.1 ± 10.6 m、最長移動距離は 44m であった。成虫に与えるダメージが小さい個体識別マーキング法を考案し、石垣島の住宅街でヒトスジシマカを対象としてマーキング実験を実施した。個体識別マークを行って放逐した個体数は、232 個体で、再捕獲されたのは 43 個体、再捕獲率は 0.21 であった。放逐された個体が再捕獲された 48 例について、再捕獲するまでに要した日数を求めたところ、最長 8 日、最短 1 日で、平均は 2.5 ± 1.7 日であった。再捕獲された 48 例のうち、放逐された場所とは異なる場所で再捕獲された例について個体別に 1 日当たりの平均移動距離を求めたところ 35 ± 22 m で、観察された 1 日の最長移動距離は 92m であった。献血制限に関わるヒトスジシマカの“最大”分散範囲を、野外調査により得られた成虫の最長余命 40.8 日と 1 日当たり最大移動距離 92m の積によって、3,753.6m と推定した。

アカイエカの吸血蚊を用いて、吸血源動物の同定を行った。131 個体のサンプルを分析し、DNA の塩基配列の類似性によって鳥類 17 種と哺乳類 5 種が吸血源となっていると推定された。これらの吸血源動物の中で飼育場所が特定できるものについて、飼育場所と吸血個体が採集された場所の距離を測定して、吸血後のアカイエカの移動分散距離を求めた。新鮮な血液を持った個体の平均移動分散距離は 30.6m および 66.7m で 40m 以内の個体が多かった。これに対して完成卵を持った個体は 350m を移動しており、血液を消化中の個体は 10m から 350m の範囲の様々な距離を移動していた。これらの結果から、アカイエカは吸血後数日間に少なくとも 350m を移動すると結論した。過去の研究でアカイエカが吸血源動物の探索のために動き回る範囲の推定値として得られた 1.2km と、本研究で得られた吸血後の移動距離を加算した 1.55km は、献血制限範囲に関するひとつの科学的根拠を与えると思われた。

5. フラビウイルス感染検査診断に関する研究：

ウエストナイルウイルス (WNV) の国内発生に備えて現在備蓄している TMA 法の WNV-NAT 試薬 (Procleix® WNV Assay) と日本赤十字社 4 ヲ所の NAT 施設が保有している cobas®s401 システムを用いた TaqMan PCR 法の WNV-NAT 試薬 (TaqScreen® WNV assay) について、感度の比較検討を行った。TMA 法の WNV-NAT 試薬の方が、TaqMan PCR 法の同試薬と比べ高く安定した結果が得られたが、両者とも製造各社が示している感度とほぼ同等であり、十分な結果が得られた。

また、WNV 国内感染発生時に WNV-NAT を組み入れた場合、現行の NAT スクリーニングの検査所要時間、完了時刻にどの程度影響するかについて、実検体を用いてシミュレートした。WNV 対象 NAT 検体が先行して検査できる場合は、通常検査の平均所要時間 9 時間 20 分に比べ 40 分程度の延長で対応できることが確認できた。

フラビウイルス遺伝子検出法の感度を増加させる目的でデングウイルスをモデルとして、Flap RT-PCR 法の開発を行った。PCR プライマーの 5' 末端に 12 塩基からなる Flap 配列を付加することにより増幅感度あるいは増幅量が改善されるとの報告がある。Flap を 2 種類のフラビウイルス共通プライマーセットと 1 種類のアルファウイルス共通プライマーに付加し、その効果を検討した。NS3 領域に対応するフラビウイルス共通プライマーの場合、使用した 3 種類のウイルス (デング 1 型ウイルス、日本脳炎ウイルス、ヨコセウイルス) のすべてで増幅感度および増幅量が向上した。一方 NS5 領域に対応するプライマーではウイルス種によって結果が分かれた。4 種のアルファウイルス (チクングニヤウイルス、シンドビスウイルス、ベネズエラ馬脳炎ウイルス、ゲタウイルス) について、Flap を付加したアルファウイルス共通プライマーを試したところ、いずれのウイルスに対しても Flap は効果的であったが、チクングニヤウイルスでの効果は弱かった。

D. 考察

白血球除去フィルターによって 5% アルブミンに添加した異常プリオンを 2Log 以上除去できることを実験的に示すことがで

きた。輸血後に vCJD を発症した供血者とその血液の受血者における vCJD 感染症例の解析から、血液製剤中に存在する異常プリオンの量は極めて少ないことが統計学的に示されているため、白血球除去フィルターは完全とは言えないまでも感染予防に効果を発揮していると考えられる。効果的なスクリーニング法がない現状では、白血球を除去することによって輸血の副作用の発生も抑制する事が期待できることから、白血球除去フィルターの導入は適切な判断だと言える。また、初流血除去の効果では、多くの報告が細菌感染の率が減少しているとその効果を認めている。無症候性の菌血症には無効であるが、穿刺部からの細菌の混入防止には効果的だと考えられた。

シャーガス病に関する、東海 4 県のパイロットスタディのアンケート調査により、「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」献血者の背景は、男性が 73%、女性が 27%と男性が多く、平均年齢 35.1 歳、67% が 40 歳未満の若い世代であり、献血回数は 42% が初回献血であった。大多数の 88% がブラジル出身であり、日本滞在年数は平均 15 年であることが明らかとなった。また、幼少時の家の構造が土壁と回答した件数が 3%、家族にシャーガス病と診断された者が 1.5%と、シャーガス病の感染リスクのある環境にあった献血者がわずかではあるが存在することも明らかとなった。東海 4 県の中南米出身献血者（カテゴリー 1）の対象 457 名中 *T. cruzi* 抗体陽性者は 1 名であったこと、全国で中南米出身献血者（カテゴリー 1）は 2,149 人/年であったこと、東海 4 県の他のカテゴリー（2・3）での疫学調査から陽性者は認められていないことか

ら、全国で 1 年間に *T. cruzi* 抗体陽性となる献血者は 5 人以下と推計された。

輸血用血液の *B. microti* 感染の有無を評価する検査法に関して、人検体を用いて、real-time LAMP 法および ICT を実施した。その結果、LAMP 法により *B. microti* に特異的なバンドパターンが得られた。また、ICT により、*B. microti* 重症感染発症患者および不顕性の血液ドナーの血清中から抗体が検出された。更に、100 例以上のヒト DNA サンプルを用いて、LAMP 法を実施した。しかしながら、61 例の抗体陽性者の DNA サンプルを用いた LAMP 法で、5 例より陽性反応が認められなかった。しかし、3 株の *B. microti* から抽出された DNA を陽性対照として用いたところ、3 種の株で遺伝子増幅が認められた。これら神戸株、ミュンヘン株、グレイ株はそれぞれ日本、ドイツ、アメリカから分離されたものであり、地理的に非常に隔だっているにも関わらず遺伝子増幅が認められたことは、本 LAMP 法が世界的な *B. microti* の検出に使用可能であると示唆される。また、アメリカの流行地で採取された人血清を用いて、ICT の有用性の検討は今回期限内に実施できなかった。しかし、ICT の作製に使用された BMN17 遺伝子情報はミュンヘン株から得られており、世界的に非常に良く保存されている。このミュンヘン株の遺伝子情報に基づいて作製され組換え蛋白質を用いた ICT により、地理的および遺伝的に遠い神戸の患者血清で抗体を検出できたことから、本 ICT の実用化の可能性は高いと考えられる。今後、更により多くの人血清数を用いて、これらの遺伝子ならびに血清診断法のその有用性について検討する必要がある。

ヒトスジシマカの移動距離を推定した。ヒトスジシマカは好適な茂みへ移動して、そこに留まる傾向がある。長崎市の林の内部で行われたマーキング実験で求められた1日の移動距離は平均 10.1 ± 10.6 m, 最長44mであった。これに対して、石垣島の住宅街の場合、1日の平均移動距離は 35 ± 22 m, 観察された1日の最長移動距離は92mであった。これらの結果は、ヒトスジシマカが好適な林の中に留まる傾向があるため、1日の移動距離は林の中では短く、緑地が点在するような住宅街では長くなることをはっきり示している。ヒトスジシマカの分散範囲は好適な茂みがあれば狭くなり、好適な茂みがなければ広くなると予想される。分散範囲を1日の移動距離によって推定する場合、もうひとつの重要なパラメータは、成虫の寿命である。本研究の調査では、吸血のために飛来する成虫の平均余命は、最短13.8日、最長40.8日であることが示された。献血制限に関わるヒトスジシマカの移動分散範囲の推定は、通常行われる平均値に基づく推定ではなく、いわゆる過大推定である方が適切である。したがって、本研究で観察された最長余命40.8日と1日当たり最大移動距離92mを掛け合わせて得られた、3,753.6mを“最大”分散範囲とするのが妥当と推察される。

E. 結論

白血球除去フィルターは輸血のアレルギー反応に関する副作用を減少させた。また、実験的には異常プリオンをある程度除去できることが示された。エキソソーム精製試薬を用いる事によって異常プリオンを簡便に濃縮できることを明らかにした。

シャーガス病については東海四県において同意を得た中南米居住歴を有する献血申込者に対し *T. cruzi* 抗体検査を実施した。対象者は457人であり1人が *T. cruzi* 抗体陽性であった。一方、これとは別に在日ラテンアメリカ人居住地域においての抗体検査を行った。平成24年度195名の抗体検査を行ない、5名が抗体陽性であった。平成25年度272名の抗体検査を実施し、抗体陽性者は2名であった。

バベシア症については、開発された遺伝子診断法のLAMPおよび簡易・迅速血清診断法であるイムノクロマト法(ICT)について、人血液試料を用いてその有用性を確認することを行った。

ウイルス媒介蚊について、献血制限に関わるヒトスジシマカの最大分散範囲を、野外調査により得られた成虫の最長余命40.8日と1日当たり最大移動距離92mの積によって、3,753.6mと推定した。

TMA法のWNV-NAT試薬(Procleix® WNV Assay)とTaqMan PCR法のWNV-NAT試薬(TaqScreen® WNV assay)の感度試験を実施し、両者とも各社が示している感度とほぼ同等であった。

フラビウイルス遺伝子検出法の感度を増加させる目的でデングウイルスをモデルとして、Flap RT-PCR法の開発を行った

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 英文論文

Tsuda, Y. and Kim, K.S.: Ecology of mosquitoes inhabiting a park in urban Tokyo, Japan: density of biting *Aedes albopictus* and laboratory estimation of the residual longevity. *Medical Entomology and Zoology* 63: 223-230. 2012

Kato, F., Kotaki, A., Yamaguchi, Y., Shiba, H., Hosono, K., Harada, S., Saijo, M., Kurane, I., Takasaki, T., and Tajima, S. Identification and characterization of the short variable region of the Japanese encephalitis virus 3' NTR. *Virus Genes* 44: 191-197, 2012.

Krayukhina E, Uchiyama S, Nojima K, Okada Y, Hamaguchi I, and Fukui K.: Aggregation analysis of pharmaceutical human immunoglobulin preparations using size-exclusion chromatography and analytical ultracentrifugation sedimentation velocity. *J. Biosci Bioeng.* 115: 104-110. 2013

Imai, K., Maeda, T., Sayama, Y., Mikita, K., Fujikura, Y., Misawa, K., Nagumo, M., Iwata, O., Ono, T., Kurane, I., Miyahira, Y., Kawana, A. and Miura, S.: Mother-to-child transmission of congenital Chagas disease, Japan. *Emerging Infectious Diseases.* 20(1):146-148. 2014

2) 和文論文

岡田義昭、輸血用血液における病原体不活化技術の現状と新規技術の開発。検査と技

術 42: 4-7, 2014

2. 学会等発表

1) 国際学会

S. Momose, Y. Furui, M. Ishinoda, T. Takahashi, S. Igarashi, Y. Sayama, S. Miura, C. Matsumoto, S. Uchida, S. Hino, A. Onitsuka, T. Minamizawa, M. Hamaguchi, M. Okada, J. Takamatsu, M. Satake, M. Minami, K. Tadokoro: Anti-tripanosoma cruzii test and questionnaire survey in Japan for blood donors native of Latin America. 24th Regional Congress of the ISBT, Kuala Lumpur, Malaysia 2013

2) 国内学会

百瀬俊也、三浦左千夫、佐藤陽子、内田茂治、日野学、鬼束惇義、南澤孝夫、小島精、高松純樹、田所憲治：東海4県の中南米居住歴を有する献血申込者に対する *Trypanosoma cruzi* 抗体検査とシャーガス病に関するアンケート結果について、第60回日本輸血・細胞治療学会総会、福島、2012年

百瀬俊也、三浦左千夫、佐藤陽子、石野田正純、松本千恵子、内田茂治、日野学、高松純樹、田所憲治：東海4県の中南米からの定住者の献血申込者に対する *Trypanosoma cruzi* 抗体検査パイロットスタディと日本における中南米からの定住者の献血者数の推計について、第53回日本熱帯医学会大会、帯広、2012年

石野田正純、百瀬俊也、柴田玲子、日野学：

問診票改訂に伴う中南米滞在歴を有する献血者数の変動について、第 60 回日本輸血・細胞治療学会総会、福島、2012 年	なし 2. 実用新案登録 なし 3. その他
岡田義昭、水沢左衛子、浜口功：血漿分画製剤からの簡便なウイルスの濃縮法：第 61 回日本輸血・細胞治療学会、横浜、2013 年	なし
岡田義昭：血漿及び血漿分画製剤からの簡便なウイルス濃縮法とその応用、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年	
津田良夫．ヤブカの個体識別マーキング法の検討：石垣島におけるヒトスジシマカとオオクロヤブカを用いた実験．第 65 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2013 年，川口市	
古澤秀明、森安浩之、後藤康仁、増田久美子、馬場明美、学、山中烈次、平力造、百瀬俊也、河敬世：我が国におけるウエストナイルウイルス（WNV）感染発生時の献血血液の検査、第 37 回日本血液事業学会総会、札幌、2013 年	
田島茂、小滝徹、谷ヶ崎和美、小林大介、谷脇妙、沢辺京子、高崎智彦．Flap 配列を付加したフラビウイルス共通プライマーおよびアルファウイルス共通プライマーの評価とゲタウイルス検出の実例について．第 20 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、神戸、2013 年 11 月	
H. 知的財産権の出願・登録状況	
1. 特許取得	