

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)
分担総合研究報告書

病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究(H24-新興-一般-013)

ヒトに病原性のある呼吸器感染症起因病原体の解析とリスク分類

研究分担者 西村秀一 国立病院機構仙台医療センター臨床研究部
ウイルス疾患研究室・室長

研究要旨:

呼吸器系ウイルス感染症についてのリスク管理に必要な情報を得ることを目的に、広範囲にわたる疫学、臨床、ウイルスの性質等の情報を収集した。さらにはそこで不足している、外部環境中のウイルスの活性維持あるいは失活のための条件の実験的検討、あるいは、環境中に存在するウイルスの不活化手段の妥当性の有無に関する実験的検討のために、方法論を確立した。情報収集対象の中での主要な位置を占めるインフルエンザウイルスを対象に、独自の実験により空中浮遊時ならびに環境表面付着時の、気温・湿度と活性保持時間の関係を調べた。また特殊装置あるいは特殊化合物の空中への拡散によるウイルス不活化や殺菌作用を謳う市販製品が、果たして実生活環境あるいは実験室内環境下で効果があるのか、何らかの効果があるとすれば、その効果発揮に必要な条件は何かといった観点で、実際のウイルス不活化/殺菌作用を検証した。

A. 研究目的 ウイルスの病原性やヒトにおける伝染性等の情報はウイルスの管理上必要な情報であり、それをコンパクトにまとめられれば、ウイルスを保存する各施設における保存や取り扱いの上で、使い勝手の良い有用な情報集となる。よって、その作成に参加する。

また、そうした情報の中に欠けている、外部

環境へのウイルス漏出の際の、ウイルス汚染の問題に関して、ウイルスの不活化に関する知見収集の観点からの実験系をつくり、実際に応用してみる。さらに、リスク管理としては、呼吸器系ウイルスに対する治療薬候補の検索も大事であり、情報収集のみならず既存の薬物での対応の可能性も探るべきであり、その

例として、ヒト初代呼吸器上皮細胞を用いてウイルスの既存薬物への感受性を調べる方法論の確立を試みた。

B. 研究方法

1) 呼吸器系ウイルス感染症についてリスク管理に必要な情報を得ることを大目的とし、文献的情報収集を行った。

2) さらに、環境中のウイルスの安定性に関するデータ収集のための実験系の確立を試みた

3) 呼吸器系ウイルスに対する治療薬候補の検索を目的に、ヒト初代呼吸器上皮細胞を用いてウイルスの薬剤感受性を調べる方法論の確立を試みた

(倫理面からの配慮について)

倫理面で問題になるようなことは、特でない

C. 研究結果

1) 呼吸器系ウイルス感染症についてリスク管理に必要な情報を得ることを目的に情報収集を行った。とくに従来のBSL分類に含まれていない近年注目され始めた呼吸器系ウイルスについて遺漏なく情報収集することを心がけ、集めた病検体を情報は、新規病原体調査表として研究代表者がとりまとめたものの中に収載された。さらに、SARS コロナウイルス（重症急性呼吸器症候群コロナウイルス）、MERS コロナウイルス（中東呼吸器症候群コロナウイルス）、A/H5N1 インフルエンザウイルス、A/H7N9 インフルエンザウイルスに関する、疫学・臨床情報の収集を行った。以上の試みで収集された情報は、今後、研究代表者が編集予定のガイドラインの中に生かされる予定であ

る。

2) 病原体が外部環境に漏れた場合の環境中における活性の維持/喪失に関しては、これまでほとんど情報がなかった。そこで、そうしたデータの取得のための方法論の確立を目的に、インフルエンザウイルスを例に、空中浮遊時ならびに環境表面付着時における気温・湿度と活性保持時間の関係を調べるための独自の実験系の確立を試み、ほぼ立ち上げることができた。これによって温度・湿度と空中浮遊ウイルスの失活の関係を調べたところ、我々の系でも、Harper や Shaffer らの古典的系による実験の成績に基づいて従来言われてきたこととほぼ同じ傾向が確認された。現在、浮遊途中で湿度が急激に変わった場合に、ウイルスの失活率にそれに応じた変化が短時間で現れるのかを調べる実験を行っている。

3) また、これを用いて二酸化塩素を含むゲル基材から生活空間に二酸化塩素を芳香剤のように放出することで生活空間あるいは環境表面のウイルス不活化や殺菌効果を謳う市販製品を対象に、実際の効果を上述の我々の実験系でためしてみたところ、ウイルスの積極的失活は、湿度に依存しており、70%RH といった高湿度条件下で100ppb近い高い空間濃度が得られた場合著しいものの、冬の室内環境に相当するような乾燥状態25%RH での効果はほとんどないことが判明した。そこで、製品ではない純粋な二酸化塩素そのもので実験したところ、同様の成績となった。なお、一方で黄色ブドウ球菌を用いた実験では、上述の100ppb 付近の空間濃度であっても殺菌効果は認められなかった。

4) ヒト気管上皮細胞を用い、抗ウイルスを目的としない薬剤の、呼吸器系ウイルスに対する抗ウイルス作用を調べた。ライノウイルス、RSウイルスに対して調べた結果、去痰薬 Ambroxol、急性喘息治療薬 Tiotropium にライノウイルスの増殖を、また喘息、COPD 薬 Formoterol 気管支喘息治療用ステロイド Budesonide、去痰薬 l-carbocysteine にRSウイルスの増殖を、同細胞において有意に抑制する作用を認めた。これによって呼吸器系ウイルスに対する治療薬候補の検索の上で、*in vitro*における既存薬剤の効果を調べるほぼ最終段階の実験系としての例を示すことができた。

D. 考察

今回はインフルエンザウイルスを代表として方法論の確立を試みたが、今後はいろいろなウイルスで試す必要がある。とくに環境付着ウイルスに対するやり方は、将来的にBSL4の実験施設が稼動した際には、エボラウイルス等、極めて危険なウイルスに対しても応用可能であろう。

E. 結論

今後も、呼吸器系ウイルスの感染に関する知見について情報収集と指針情報の改定と、それに基づく対応準備を継続的に行うべきである。また、我々がインフルエンザウイルスでおこなった外部環境中のウイルスの活性に関する研究をすべてのウイルスで実施することが望まし

い。

それとともに、環境中のウイルスを失活させる適切な方法の模索が必要であり、それらの使用条件の検討ならびに無効な方法の排除のための検証が大事である。また、特異的治療法に乏しいウイルス感染症においても、既存の薬剤の効果を、今一度試してみるという戦略も、選択肢の一つとして考えるべきである。

F. 健康危険情報

H7N9 インフルエンザや MERS については、本報告書を記載している現在、さしあたり目前に迫った大きな脅威は存在しない。だが、そうとはいえ、危機管理という観点からは、油断することなく本邦での発生時の準備を、水面下で粛々と進めておくべきであろう。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Katsushima Y, Katsushima F, Suzuki Y, Seto J, Mizuta K, Nishimura H, Matsuzaki Y: Characteristics of mycoplasma pneumoniae infection identified by culture in a pediatric clinic. *Pediatr Int*, 57: 2014 Sep 29. doi: 10.1111/ped.12513.
- 2) M Yamaya, LK Nadine, C Ota, H Kubo, T Makiguchi, R Nagatomi, H Nishimura. Magnitude of influenza virus replication and cell damage is associated with interleukin-6 production in primary cultures of human tracheal epithelium. *Resp. Physiol. Neurol.*, 202: 16-23, 2014.
- 3) E Hatagishi, Okamoto, Ohmiya, H Yano, T

- Hori, W Saito, H Miki, Y Suzuki, R Saito, T Yamamoto, M Shoji, Y Morisaki, S Sakata, H Nishimura: Establishment and Clinical Applications of a Portable System for Capturing Influenza Viruses Released through Coughing. PLOS ONE 2014 Aug 1;9(8):e103560. doi: 10.1371
- 4) Yamaya M, Nishimura H, Nadine LK, Ota C, Kubo H, Nagatomi R: Ambroxol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. Arch Pharm Res 37, 520-529, 2014.
 - 5) Yamaya M, Nishimura H, Nadine L, Kubo H, Nagatomi R: Formoterol and budesonide inhibit rhinovirus infection and cytokine production in primary cultures of human tracheal epithelial cells. Respiratory Investigation 52:251-260, 2014.
 - 6) M Yamaya, L Nadine, H Kubo, K Saito, R Saito, H Nishimura: Effects of neuraminidase inhibitors on the release of oseltamivir-sensitive and oseltamivir-resistant influenza viruses from human airway epithelial cells. Journal of Medical Virology DOI: 10.1002/jmv.23974, 2014
 - 7) E Takashita, M Ejima, R Itoh, M Miura, A Ohnishi, H Nishimura, T Odagiri, M Tashiro: A community cluster of influenza A (H1N1) pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November to December 2013. Euro Surveillance, 19:1-6, 2014
 - 8) Y Matsuzaki, K Sugawara, C Abiko, T Ikeda, Y Aoki, K Mizuta, N Katsushima, F Katsushima, Y Katsushima, T Itagaki, Y Shimotai, S Hongo, Y Muraki, H Nishimura: Epidemiological information regarding the periodic epidemics of influenza C virus in Japan (1996-2013) and the seroprevalence of antibodies to different antigenic groups. J Clinical Virol. 61: 87-93, 2014
 - 9) K Fukushima, T Takahashi, S Ito, M Takaguchi, M Takano, Y Kurebayashi, K Oishi, T Kato, E Y Park, H Nishimura, T Takimoto, T Suzuki: Terminal Sialic Acid Linkages Determine Different Cell Infectivities of Human Parainfluenza Virus Type 1 and Type 3. Virology 464-465, 424-431, 2014.
 - 10) Vinh QN, Abe S, Sun G, Matsuoka A, Nishimura H, Ishuhara M, *Matsui T: Rapid screening for influenza using a multivariable logistic regression model to save labor at a clinic in Iwaki, Fukushima, Japan. American Journal of Infection Control 42:551-553, 2014
 - 11) Z Ysng, A Suzuki, O Watanabe, M Okamoto, A Ohmi, W Huang, and H Nishimura: An outbreak of human metapneumovirus in a severe motor-and-intellectual disabilities' ward in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 67:318-32, 2014
 - 12) K Tajima, H Nishimura, S Hongo, M Hazawa, A S-Nakamura, K Tomiyama, C Obara, T Kato: Estimation of secondary measles transmission from a healthcare worker in a

- hospital setting. *International Journal of Infectious Diseases* 24: e11-e13, 2014
- 13) H Nishimura, S Sakata, A Kaga: A New Methodology for Studying Dynamics of Aerosol Particles in Sneezes and Cough Using a digital high-vision, high-speed video system and vector analyses. *PLoS ONE* 8: e80244. doi:10.1371/journal.pone.0080244, 2013.
- 14) E Takeshita, Y Muraki, K Sugawara, H Asao, H Nishimura, K Suzuki, T Tsuji, S Hongo, Y Ohara, Y Kawaoka, M Ogawa, Y Matsuzaki: Intrinsic Temperature Sensitivity of Influenza C Virus Hemagglutinin-Esterase-Fusion Protein. *J. Virol.*, 86: 13108-13111, 2012.
- 15) M Yamaya, H Nishimura, L Nadine, H Kubo, R Nagatomi: Tulobuterol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Physiological Reports* 2013. 1: e00041.
- 16) K Mizuta, C Abiko, Y Aoki, T Ikeda, Y Matsuzaki, S Hongo, T Itagaki, N Katsushima, A Ohmi, H Nishimura, and T Ahiko: Molecular epidemiology of Coxsackievirus A16 strains isolated from children in Yamagata, Japan between 1988 and 2011. *Microbiol. Immunol.* 57: 400-405, 2013.
- 17) S Yamayoshi, S Iizuka, T Yamashita, H Minagawa, K Mizuta, M Okamoto, H Nishimura, K Sanjoh, N Katsushima, Ts Itagaki, Y Nagai, K Fujii, and S Koike: Human SCARB2-Dependent Infection by Coxsackievirus A7, A14, and A16 and Enterovirus 71. *J. Virol.* 86: 5686-5696, 2012.
- 18) A Takeyama, K Hashimoto, M Sato, S Kanno, K Takano, M Ito, M Katayose, H Nishimura, Y Kawasaki, M Hosoya: Rhinovirus load and disease severity in children with lower respiratory tract infections. *J. Med. Virol.* 84: 1135-1142, 2012.
- 19) Yamaya M, Nishimura H, Hatachi Y, Yasuda H, Deng X, Sasaki T, Mizuta K, Kubo H, Nagatomi: Levofloxacin inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Antimicrob Agents Chemother* 56, 4052-61, 2012.
- 20) Ebina M, Taniguchi H, Miyasho T, Yamada S, Shibata N, Ohta H, Hisata S, Ohkouchi S, Tamada T, Nishimura H, Ishizaka A, Maruyama I, Okada Y, Takashi K, Nukiwa T.: Gradual increase of high mobility group protein b1 in the lungs after the onset of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Med*, 91: 64-86, 2012.
- 21) M Yamaya, H Nishimura, Y Hatachi, H Yasuda, X Deng, T Sasaki, H Kubo and R Nagatomi: Inhibitory effects of Tiotropium on rhinovirus infection in human airway epithelial cells. *European Respiratory J.*, 40: 122-132, 2012.
- 22) K Shirato, M Kawase, O Watanabe, C Hirokawa, S Matsuyama, H Nishimura and F Taguchi: Differences in neutralizing antigenicity between laboratory and clinical isolates of HCoV-229E isolated in Japan in

- 2004-2008 depend on the S1 region sequence of the spike protein. J. Gen. Virol., 39: 1908-1917, 2012.
- 23) T Kooriyama, M Okamoto, T Yoshida, T Nishida, T Tsubota, A Saito, M Tomonaga, T Matsuzawa, H Akari, H Nishimura, T Miyabe-Nishikawa: Epidemiological study of zoonoses derived from humans in captive chimpanzees. Primates, DOI 10.1007/s10329-012-0320-8, 2012.
- 24) Asada M, Yoshida M, Hatachi Y, Sasaki T, Yasuda H, Deng X, Nishimura H, Kubo H, Nagatomi R, Yamaya M: I-carbocysteine inhibits respiratory syncytial virus infection in human tracheal epithelial cells. Respir Physiol Neurobiol., 180: 112-118, 2012.
- 25) 菱川容子, 橋本真帆, 倉橋宏和, 別府玲子, 大谷可菜子, 西村秀一: 重症心身障害児(者)施設におけるヒトメタニューモウイルスの集団感染と重症例の発生 日本重症心身障害学会誌 39:379-386, 2014.
- 26) 山口育男, 青山知枝, 山本優, 木下恵子, 伊藤由美, 西村秀一: イムノクロマト法インフルエンザウイルス抗原検出キット BD ベリターシステム Flu における機器判定の感度とその目視判定に対する優越性の検討. 日本臨床微生物学雑誌 23:39-44, 2013.
- 27) 西村秀一: 殺菌性能を有する空中浮遊物質の放出を謳う各種電気製品の, 寒天平板培地上の細菌に対する殺菌能の本体についての解析. 感染症学会誌 86: 723-733, 2012.
- 28) 西村秀一: 殺菌能力を謳う各種空気洗浄電気製品の, 塗布乾燥状態の細菌に対する効果の有無の検証. 日本環境感染学会誌 27: 342-345, 2012.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし