

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
分担研究報告書（業務項目）

サーベイランス体制や診断法、治療法等の在り方についての調査・分析

担当責任者	竹内 勤	聖路加国際大学特任教授
	西條 政幸	国立感染症研究所ウイルス第一部部長
	森川 茂	国立感染症研究所獣医科学部長
	安田 二郎	長崎大学熱帯医学研究所教授
	高田 礼人	北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター教授
	横手 公幸	化学及血清療法研究所ワクチン事業部門事業推進部部長
	古田 要介	富山化学工業株式会社総合研究所薬理研究部副部長
担当者	齋藤 智也	国立保健医療科学院健康危機管理研究部上席主任研究官
	犬塚 隆志	一般社団法人日本薬理評価機構研究統括
研究協力者	奥谷 晶子	国立感染症研究所獣医科学部 主任研究官
	黒崎 洋平	長崎大学熱帯医学研究所助教
	前平 由紀	聖路加国際大学

研究要旨 米国のバイオサーベイランス体制について調査を行った。また、業務項目1で得られた優先的に検討すべき病原体・毒素について、主に米国における対抗医薬品・診断薬の開発パイプラインの網羅的な調査を行った。日本における生物テロ対策に使用しうる薬剤・ワクチン開発や診断薬開発に向けた国内基盤技術調査として、BSL4病原体代替病原体による感染実験系に関する研究、出血熱ウイルスの阻害薬のスクリーニング手法、iPS細胞を活用したスクリーニング手法の検討を行った。

A．研究目的

天然痘、ペスト、炭疽及び鼻疽等の生物テロ等で使用されうる危険性の高い病原体に関するサーベイランス体制や、迅速かつ精度の高い診断法や治療法等の在り方について調査・分析を行う。また、生物テロ対策に使用しうる薬剤・ワクチン開発や診断薬開発に向けた国内基盤技術について調査研究を行う。

B．研究方法

1．米国のサーベイランス体制について

世界でも生物テロ対策について最も先進的と考えられる米国を対象として、特に2000年代初頭から取り組まれているサーベイランス体制“バイオサーベイランス Biosurveillance”について調査を行った。主に以下の資料（GAO Report to Congressional Committees BIOSURVEILLANCE Efforts to Develop a National Biosurveillance Capability Need a National Strategy and a Designated Leader, National Strategy for Biosurveillance (July 2012), National Biosurveillance Integration Center

Strategic Plan (November 2012), National Biosurveillance Science and Technology Roadmap (June 2013)）を参照しつつ、その背景、開発の歴史と現状、現在の構想、将来的見通しについて要約・整理を行った。

2．診断法の整備状況について

イ．ウイルス感染症診断について

日本国内にはエボラ出血熱等、biosafety level-4 (BSL-4) 病原体による感染症は流行していない。そこでエボラウイルス、マールブルグウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、ラッサウイルス等の感染性ウイルスを用いる研究、これらウイルスを用いた診断システム開発はできない。そこで国立感染症研究所（感染研）ウイルス第一部では、これまでこれらウイルスの組換え蛋白質を用いた抗体測定法、抗原検出法、ウイルスが分離された場合に同定するための抗体の準備を整備してきた。本研究では、感染研ウイルス第一部にてこれらの感染症に対する診断システムの整備状況をまとめるとともに、その診断における有用性（精度と特異度）が評価されているのか否かを評価する。

ウイルス感染症の診断には、患者から採取

された検体（血液等）からの感染性ウイルス分離、検体中ウイルスの存在の証明（遺伝子増幅検査、抗原検出法）、急性期および回復期（回復した場合）における抗体価の有意な上昇の確認が必要である。患者体内におけるウイルスの存在を証明する検査法には、ウイルス分離同定検査、遺伝子増幅検査（コンベンショナルPCR法、定量的リアルタイムRT-PCR法）、ウイルス抗原検出法（抗原検出ELISA法）がある。感染研ウイルス第一部におけるこれらの検査法の準備状況および個々の検査法の診断における有用性の評価状況（論文発表を含む）を調査した。

ロ.アウトブレイク時の診断体制の検討

エボラウイルスは生物テロへの使用が危惧される生物剤の一つであり、現地診断ラボの分析は大規模な生物テロが発生した際の対応を考える上で重要な情報である。エボラ出血熱を事例とした診断体制について、情報収集および分析を行った。EUモバイルラボチームの一員として参加している英国パブリックヘルスイングランド（PHE）を通じて、西アフリカの現地モバイル診断ラボに関する情報を収集した。

ハ.炭疽菌のサーベイランスや病原性セレウス菌のサーベイランス及び鑑別に関する現状

生物テロ兵器として過去に使用されたが、日本国内では現在発生がみられない炭疽の芽胞と、炭疽菌の近縁菌種であり一部の菌株では人への病原性があるセレウス菌の国内土壌の浸潤状況についての検証結果を基に、炭疽菌芽胞や病原性セレウス菌が今後国内で分離された場合の検査体制のあり方について検討した。以下の3資料を参考とした。

- ・ 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「ワンヘルズ理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究」報告（平成22年～23年度）

- ・ 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「バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究」報告（平成23年～25年度）

- ・ 財団法人発酵研究所一般研究助成「国内土壌中のBacillus cereus group 菌種群の網羅的検索および分類同定と炭疽菌との鑑別法の確立」（平成23年～24年度）

土壌中のセレウス属菌リスク検証については、厚生労働科学研究班：ワンヘルズ理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究

報告を基に、国内における炭疽発生リスク管理および病原性セレウス菌の検査体制についての課題を抽出した。

炭疽発生国のモデルケースとして、毎年ヒト患者および動物において炭疽発生報告があるモンゴルとの共同研究による過去の発生報告および分離状況報告を基に、モンゴル国内での発生状況および分離菌株を的確に識別するためのサーベイランス体制についての検討を行った。炭疽常在国であるモンゴルにおける発生報告および分離株のタイピング法の検証については、厚生労働科学研究班：バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究報告および、財団法人発酵研究所一般研究助成「国内土壌中のBacillus cereus group 菌種群の網羅的検索および分類同定と炭疽菌との鑑別法の確立」を基に、発生国における効果的な菌株分離および分子遺伝学的分類についての課題を抽出した。

3. 米国における対抗医薬品・診断薬開発の状況

業務項目 で選定した炭疽、天然痘、ウイルス性出血熱、リシン、ボツリヌス毒素について、臨床開発において最も先進的な米国において臨床試験段階にある薬剤・ワクチンを開発フェーズ別にまとめ、各薬剤の概要を整理した。臨床開発状況については、clinicaltrials.gov を上記の病原体名で検索を行い、該当医薬品を抽出し、開発状況の概要を整理した。また、学会誌等の情報を参考にした。調査方法等詳細は資料2に記載した。

4. 生物テロ対策に使用しうる薬剤・ワクチン開発や診断薬開発に向けた国内基盤技術の調査研究

イ. BSL-4 病原体代替病原体による感染実験系に関する研究

わが国ではBSL-4施設が稼働していないため、バイオテロに使用される可能性の高いBSL-4病原体を扱った研究ができない。そこで、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス（BSL-4）の代替モデルとして近縁のハザラウイルス（BSL-2）を用いた感染実験系の評価を行った。ハザラウイルスをヒト由来SW13細胞に感染させ抗ウイルス剤候補物質（リバピリン、ファビピラビル）存在下で48時間培養し、上清に産生される子孫ウイルス数をブラック法で定量して抗ウイルス活性を評価した。

ロ. 出血熱ウイルスの阻害薬のスクリーニ

ング手法に関する研究

フィロウィルスの感染による出血熱に対する効果的な予防・治療法は実用化されておらず、有効な予防・治療法の開発が求められている。ウイルス感染の第一ステップである細胞侵入過程に着目し、エボラウィルスの細胞進入を阻害する化合物探索のためのスクリーニング方法の確立を目的とした。

以下に示す手順で、GFPを発現する水泡性口炎ウイルス(VSV)のシュードタイプシステムを用いて、化合物による感染阻害効果をGFP発現細胞数の低下を指標に判定可能かどうか検討した。

96穴プレート上のVeroE6細胞に、サンプル化合物を含む培地および含まない培地(Ave100%、8穴)を添加し、37度で30分インキュベートした。

エボラウィルスの表面糖蛋白質をもつシュードタイプVSV(GFP発現)を感染させた(1000 IU/well)。ウイルスを感染させない条件(Ave0%、8穴)も設定した。

12時間後にGFP発現細胞数をIN cell Analyzerで各穴毎に計測した。

八. iPS細胞を活用したスクリーニング手法の検討

iPS細胞技術を応用した医薬品心毒性評価法については、国際標準化に向けて、米国のCiPA(Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay)、我が国のJiCSA(Japan iPS Cardiac Safety Assessment)等で相互に連携しつつ、その検証作業が積極的に行われている。また、創薬においても、疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究等が行われている。他方、米国のNIH、ローレンスリバモア国立研究所等においては、生物テロ対策に使用しうる薬剤開発や診断薬開発において、iPS細胞を活用したスクリーニング手法の開発が行われている。米国でのこれら開発の状況を把握し、我が国において必要な国内基盤技術の開発の取り組みを考察する。

(倫理面への配慮)

人や動物を対象とする実験やアンケート等を行っておらず、倫理面での配慮を特段必要とする事項は無い。調査の特性上、悪用の恐れがある機微的な情報の公開のあり方には厳重に注意を払う。

C. 研究結果

1. 米国のサーベイランス体制について

米国の「バイオサーベイランス」について、

その歴史的背景から構想、体制、将来的見通しを資料1にまとめた。

2. 診断法の整備状況について

イ. ウイルス感染症診断について

国立感染症研究所には、エボラ出血熱、マールブルグ出血熱、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱等の急性期患者の診断システム(ウイルス分離された場合の同定のための抗体を用いた分離同定法、遺伝子検出法、抗原検出ELISA)の準備が整っていることが確認された(表1)。

抗体検査は、ウイルス性出血熱患者が回復する場合に有用な検査となる。また、血清疫学調査等に用いられる検査法である。国立感染症研究所には、いわゆるBSL-4施設は設置されているものの、稼働の許可が得られていないため、感染性ウイルスを用いて作製された抗原が抗体検査に用いることはできない。そこで組換え抗原(核蛋白質)を抗原とした抗体検出システム(間接蛍光抗体法、ELISA法)が開発して整備されている。その多くが海外との共同研究により診断に有用であることが明らかにされている。

ロ. アウトブレイク時の診断体制の検討

2014年西アフリカで大規模なエボラウイルス病のアウトブレイクが発生し、西欧諸国を中心に現地に診断ラボが設営された。西アフリカの3国(ギニア、シエラレオネ、リベリア)での診断ラボの開設にあたっては検査機器、試薬、個人防護具、発電機等を15箱のスーツケース型可動式ボックスに梱包して現地に運搬しており、非常に効率よく診断ラボの設営がされている。現地では患者検体から市販のキットを用いて核酸を抽出し、スマートサイクラ(Cepheid社製)によるリアルタイムRT-PCR法によりエボラウイルス遺伝子の検出を行っているが、一日に検査できる検体数は多くのラボで50程度であり、より簡便迅速な診断法が必要とされていることが明らかになった。

表1. エボラ出血熱等一類感染症およびサル痘ウイルス感染症の各診断法の整備状況の詳細。 、 、 、 および、 × はそれぞれ準備されかつ臨床サンプルまたは感染性ウイルスを用いた評価がなされているもの（論文発表あり）、準備されているが臨床サンプルまたは感染性ウイルスを用いた評価がなされているもの（研究協力機関の支援を得て評価済み）、準備されているが評価がなされていないもの、および、準備されていないものを示す。

各種検査法	エボラ出血熱	マールブルグ出血熱	クリミア・コンゴ出血熱	ラッサ熱	南米出血熱(アルゼンチン出血熱)	痘瘡(天然痘)	サル痘ウイルス感染症
ウイルス分離および同定		1	2	3	4		
遺伝子検査							
PCR			2, 5	3			6
リアルタイムPCR		1		3			6, 7, 8
ウイルス抗原検出ELISA法	9	1	2	3	4	×	×
抗体検査							
間接蛍光抗体法	10		11	12			
IgG-ELISA	13	13	14	3	15		7
IgM-ELISA			16				
シュードタイプVSVシステムを用いた中和抗体測定法			17	12		×	×

1. Saijo M, Georges-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Philippe M, Georges AJ, Kurane I, Morikawa S. Jpn J Infect Dis. 2006 Oct;59(5):323-5. Marburgvirus nucleoprotein-capture enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies to recombinant nucleoprotein: detection of authentic Marburgvirus.
2. Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever using a novel monoclonal antibody. J Med Virol. 2005 Sep;77(1):83-8.
3. Saijo M, Georges-Courbot MC, Marianneau P, Romanowski V, Fukushi S, Mizutani T, Georges AJ, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. Clin Vaccine Immunol. 2007 Sep;14(9):1182-9.
4. Nakauchi M, Fukushi S, Saijo M, Mizutani T, Ure AE, Romanowski V, Kurane I, Morikawa S. Characterization of monoclonal antibodies to Junin virus nucleocapsid protein and application to the diagnosis of hemorrhagic fever caused by South American arenaviruses. Clin Vaccine Immunol. 2009 Aug;16(8):1132-8.
5. Tang Q, Saijo M, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Han L, Shimayi B, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. A patient with Crimean-Congo hemorrhagic fever serologically diagnosed by recombinant nucleoprotein-based antibody detection systems. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 May;10(3):489-91.
6. Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Iizuka I, Sakai K, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Diagnosis and assessment of monkeypox virus (MPXV) infection by quantitative PCR assay: differentiation of Congo Basin and West African MPXV strains. Jpn J Infect Dis. 2008 Mar;61(2):140-2.

7. Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. LC16m8, a highly attenuated vaccinia virus vaccine lacking expression of the membrane protein B5R, protects monkeys from monkeypox. *J Virol*. 2006 Jun;80(11):5179-88.
8. Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogata M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S. *J Med Virol*. Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. 2009 Jun;81(6):1102-8.
9. Niihara M, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Miranda ME, Morikawa S. Detection of Ebola viral antigen by enzyme-linked immunosorbent assay using a novel monoclonal antibody to nucleoprotein. *J Clin Microbiol*. 2001 Sep;39(9):3267-71.
10. Saijo M, Niihara M, Morikawa S, Kurane I. Immunofluorescence method for detection of Ebola virus immunoglobulin G, using HeLa cells which express recombinant nucleoprotein. *J Clin Microbiol*. 2001 Feb;39(2):776-8.
11. Saijo M, Qing T, Niihara M, Maeda A, Ikegami T, Sakai K, Prehaud C, Kurane I, Morikawa S. Immunofluorescence technique using HeLa cells expressing recombinant nucleoprotein for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol*. 2002 Feb;40(2):372-5.
12. Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Saijo M, Morikawa S. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Viruses*. 2012 Oct 12;4(10):2097-114.
13. Saijo M, Niihara M, Morikawa S, Ksiazek TG, Meyer RF, Peters CJ, Kurane I. *J Clin Microbiol*. 2001 Jan;39(1):1-7.
14. Recombinant nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to Ebola and Marburg viruses using recombinant nucleoproteins. Saijo M, Qing T, Niihara M, Maeda A, Ikegami T, Prehaud C, Kurane I, Morikawa S. *J Clin Microbiol*. 2002 May;40(5):1587-91.
15. Ure AE, Ghiringhelli PD, Possee RD, Morikawa S, Romanowski V. Argentine hemorrhagic fever diagnostic test based on recombinant Junin virus N protein. *J Med Virol*. 2008 Dec;80(12):2127-33.
16. Saijo M, Tang Q, Shimayri B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections. *J Med Virol*. 2005 Feb;75(2):295-9.
17. 須田遊人，谷英樹，西條政幸，堀本泰介，下島昌幸．クリミア・コンゴ出血熱ウイルスの株間でのシュードタイプウイルスを利用した抗体への反応性の比較．第62回日本ウイルス学会学術集会，2014年11月，横浜

八. 炭疽菌のサーベイランスや病原性セレウス菌のサーベイランス及び鑑別に関する現状

上記の参考とした研究報告書等に示されたように、これまでに日本国内の土壌中からは炭疽菌芽胞が分離されていないことから、現在の日本国内の土壌環境においては自然発生的に炭疽に罹患する可能性は極めて低いと思われる。一方、土壌から分離されたセレウス菌の中には食中毒や院内感染起因菌として分離されたセレウス菌と遺伝学的に近縁な菌株があることと合わせて、米国においては炭疽菌の病原性因子であるタンパク毒素および莢膜遺伝子を保持した土壌由来のセレウス菌が、ヒトへ重篤な病原性を示した事例(参考文献:Two capsular polysaccharides cause anthrax-like disease. Mol Microbiol. 2011, 80(2):455-470.)が見出されていることを考えると、発生頻度は低いものの、土壌由来かつヒトへの病原性を獲得した炭疽菌様のセレウス菌が今後分離される可能性を考慮して全国的に土壌検体からのモニタリングを継続していく必要があると思われる。そのためのモニタリング手法の開発が必要である。

モンゴルの分離株については、動物由来あるいは芽胞汚染地域の土壌検体由来の炭疽菌株での検証の結果、12箇所のSNP同定による菌株タイピングの有効性が示唆されている。一方、ヒト患者由来の炭疽菌株にもこれらのSNPで分類可能であるかや、地域的な炭疽発生状況分布と分離菌株の遺伝学的タイプとの相関がみられるかなどの網羅的な検証は未だ行われていない。

3. 米国における対抗医薬品開発の状況

調査結果を資料2にまとめた。

4. 生物テロ対策に使用しうる薬剤・ワクチン開発や診断薬開発に向けた国内基盤技術の調査研究

イ. BSL 4 病原体代替病原体による感染実験系に関する研究

ハザラウイルスを用いた感染実験系で、リバビリン、ファビピラビルは共に100uM以上の濃度で顕著にハザラウイルス増殖を抑制することが確認された。

ロ. 出血熱ウイルスの阻害薬のスクリーニング手法に関する研究

アッセイ系のバリデーションを行った結果、Ave100%のCV値(変動係数、coefficient of variation: CV(%) = 標準偏差/平均)は

5%程度、S/B比(Signal/Background ratio: $S/B = Av100\%/Av0\%$)は1000以上、Z'-factor(計算式: $Z' = 1 - (3 \times SD100\% + 3 \times SD0\%) / (Av100\% - Av0\%)$)は0.8以上であった。

八. iPS細胞を活用したスクリーニング手法の検討

Organs-on-Chips for Drug Screeningは、米国立衛生研究所(NIH) NCATS(National Center for Advancing Translational Sciences)が、DARPA、FDAと連携して進める研究開発プログラムである。臓器(肺、心臓、肝臓、中枢神経等)の微細モデルを透明なマイクロチップ上に構築し、毒性試験や、生物テロ対策に係る研究に資するスクリーニング手法の開発が行われていた。2012年秋からの5年間で、NIH、DARPAそれぞれ\$75Mの予算とされていた。

NIH、国立アレルギー・感染症研究所、ロッキーマウンテン研究所では、iPS細胞技術によりマイクロプレート上に構築した微小肝組織プラットフォームを用いて、実際の肝臓組織に近い生理学的な環境下におけるエボラウイルスの感染動態の解明及び抗ウイルス薬のスクリーニングをする試験系の開発について検討・準備をしていた。

また、ローレンスリバモア国立研究所では、生物テロ対策、化学物質テロ対策に係る研究に資する試験系としてiCHIP(in vitro chip-based human investigational platform)の開発が行われていた。末梢神経の試験系の開発に既に着手しており、その更なる開発及び脳や肝臓等の細胞をチップに収めることに成功すれば、薬剤の開発に要する時間が劇的に短縮されるとのことであった。なお、化学物質テロ対策に係る研究に資する試験系は、Forensic Science Center(FSC)と連携しつつその開発が行われていた。

D. 考察

1. 米国のサーベイランス体制について

「統合された全米におけるバイオサーベイランス活動は米国人の健康と安全を守るために国家の安全の最優先事項の一つである」とバイオサーベイランス国家戦略に記載されており、米国においてバイオサーベイランスは高く位置づけられている。このようなバイオサーベイランスは、米国政府が長年取り組んできた疾病サーベイランスが、近年の大量破壊生物兵器や高病原性の新興感染症に対する危機感の高まりを受けてバイオサーベイランスへと拡張されてきたものである。例えばバイオテロ対策としての国土安全

保障省主導によるバイオサーベイランス体制や、新興再興感染症の脅威への認識も高まる中で、保健福祉省主導によるバイオサーベイランス体制などがある。現在米国ではこのような既存のバイオサーベイランス活動を統合し、さらにあらゆるハザード

(all-hazard)に対する危機管理対策の重要な柱としてのバイオサーベイランス体制を構築する途中にある。また、今後バイオサーベイランスの強化のためには、バイオサーベイランスの統合、人材育成等や技術開発等による能力構築やイノベーションの助長、国内外における関係機関のパートナーシップの強化が重要とバイオサーベイランス国家戦略に記載されている。特にバイオサーベイランス活動の統合と、不確実性のものに対する予測に関する手法を向上させることでよりよい意思決定につなげることが重視されている。

生物テロを人に限らず、環境や家畜をも広く対象として含めるならば米国の取り組みは重要なコンセプトメイキングであるだろう。また、気候変動等の地球規模の環境変動に伴う健康危機管理を考える上では重要な概念であろう。国際保健規則(IHR)のコアキャパシティの概念からも、オールハザードの異常事態を検知できる能力が求められており、先進的な概念であると考えられる。我が国において、このような統合的な取り組みは未だ存在しない。様々なデータの電子化が進み、また、ビッグデータと呼ばれる構造化されないデータ群も増えてくる中で、横断的なデータ統合とリアルタイムの分析能力の増強は、先進的なサーベイランス体制に発展していく中で極めて重要なキャパシティであると考えられる。また、システムの能力のみならず、その情報をもとにした分析・コミュニケーション・対応に至る能力がますます重要になってくるだろう。後者は特にマシンやソフトウェアに任せられない人手が必要な部分であり、人材の教育・能力開発が不可欠である。

バイオサーベイランスの中で、生物テロ対策として重要な要素は、次世代診断システムやBioSense、NBIS、EIPであろう。Biowatchのように、環境中でエアロゾル等散布を検知するシステムが我が国でも恒常的に動作させることはコスト的に受け入れがたいと思われるが、電子カルテ等医療データの電子化が進むにつれて、より効率的な医療機関・検査機関データからの早期異常検知は技術的に実現可能となってくるだろう。そのようなスコープを持ちつつ、より早期に、高感度に

異常を検知し介入するアプローチが可能になることが期待される。

2. 診断法の整備状況について

2014年の西アフリカにおけるエボラ出血熱の大規模流行や、流行地の拡大が認められるクリミア・コンゴ出血熱の流行等の状況を鑑みると、輸入感染事例に迅速に対応するための診断システムの整備していることが重要であり、その準備はバイオテロ対策にも貢献できる。国内では、エボラ出血熱、マールブルグ出血熱、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱等の急性期患者の診断システム(ウイルス分離された場合の同定のための抗体を用いた分離同定法、遺伝子検出法、抗原検出ELISA)の準備が整っていることが確認された。また抗体検査法についても整備されていた。

さて、日本には稼働が許可されたBSL-4施設がないことから、出血熱ウイルス感染症の診断システム開発において、海外との共同研究が欠かせない状況である。国際的な研究機関との連携が欠かせないことが明らかである。これまで米国CDC、フランスの国立医学研究所のP4ラボラトリー、中国CDC、ナイジェリア・マイドゥーグリ大学、アルゼンチン・ラプラタ大学等の共同研究を通じて、診断システムおよび研究が実施されてきた。今後も国際的な連携を強化することがもめられる。

これらの開発された診断システムの一部の診断等における有用性は、Global Health Security Action Groupなどの国際的連携の支援を得て行われている。国際的な研究機関との共同研究だけでなく、GHSAG等の国際的なフレームに積極的に関わっていくことも重要である。これまで本研究班の研究代表者である竹内勤博士が中心となり、日米バイオディフェンス会議が継続的に開催されてきた。今後もこのような連携が必要であることは言うまでもない。

これからはウイルス性出血熱の診断法の開発と整備だけでなく、病態を明らかにする研究、治療・予防法の研究が求められる。BSL-4施設稼働が必要であると考えられることを強調したい。

西欧諸国のモバイル診断ラボの設営は非常に組織的に行われているが、診断法については検査機器の小型軽量化や検査時間の簡便・迅速化など課題があることが明らかになった。万が一、生物テロ等で患者が急速に増加することがあれば、より患者に近いところでの簡便なスクリーニング法や、地衛研等で

の診断キャパシティが問題になることがあるだろう。後者については、これまでもMERSや鳥インフルエンザH7N9の診断体制の構築等において、基本的なキャパシティは整備されており、プライマー等の配布により迅速に検査体制を整える基盤はあると考えられる。前者の簡便なスクリーニング法は、今後の課題である。インフルエンザ等で簡易キットが普及しているように、様々な病原体に対して迅速に簡易キットが供給できる体制が整えば、生物テロ発生後の混乱、特に「誰が感染しているかわからない、誰から感染させられるかわからない」といった社会を襲う恐怖感に対抗するために有用であろう。

2. 炭疽菌のサーベイランスや病原性セレウス菌のサーベイランス及び鑑別に関する現状

日本国内における自然発生的な炭疽の発生リスクは大きくないと思われる。一方、国内の土壌由来のセレウス菌の中に、炭疽に類似した重篤な症状を引き起こしうる病原性セレウス菌が存在するかについては、今後も継続的な土壌モニタリングが必要である。このためには、万一の発生の際に迅速検査が可能な体制（PCR検査やシーケンスなど）を整備しておく必要があると思われる。

モンゴルは炭疽常在国で、毎年ヒト、野生動物、家畜で炭疽が発生し、患者・患者の炭疽発生地域の土壌からも多数の炭疽菌株が分離されている。これまでの奥谷らとモンゴルとの共同研究で菌株識別のために抽出されたSNPがヒト患者由来菌株にも利用可能であるかについての検証を行うことで、公衆衛生および動物衛生行政双方に応用可能な疫学情報を提供できるものとする。

炭疽菌を菌株レベルで識別するための分類手法には、Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) がこれまで汎用されてきた。しかし、今回調査した最近の研究成果から、この方法では分類できない炭疽菌株が存在することが明らかとなってきた。例えばモンゴルの炭疽菌では、MLVAでは同一タイプと判断され区別できない炭疽菌株が、SNPによるタイピングで菌株レベルの区別が可能な例があった。このことから、炭疽菌菌株の識別法としてSNPタイピングが有効である可能性が示された。今後は、より汎用性の高いSNPタイピングを可能とする最適なSNPを選択するための基礎的データとして、モンゴル以外にも他国での炭疽菌分離株の遺伝子解析から、より多くの炭疽菌株の遺伝子配列情報を

取得する必要がある。

日本国内における炭疽の発生リスクは高くはないと思われるが、これまで発生が確認されていない「炭疽菌の病原遺伝子を保持するセレウス菌」の発生リスクについては今後も調査を継続する必要がある、そのためのモニタリング手法の開発が望まれる。炭疽菌の由来を鑑別可能なMVLAやSNPタイピングの改良が必要であり、そのためにはより多くの炭疽常在国・地域のより多くの菌株の遺伝子配列情報の取得が必要である。

3. 米国における対抗医薬品・診断薬の開発状況

炭疽、天然痘、エボラ出血熱、マールブルグ出血熱、ラッサ出血熱、リシン、ボツリヌス毒素について、米国での医薬品等開発パイプラインが明らかになった。

2014年に西アフリカで発生したエボラ出血熱アウトブレイクは、未曾有の事態に、開発段階の医薬品が検討され、その倫理的問題も検討され、投与の妥当性が議論されたのちに実際に患者に使用されるに至った。生物テロ発生時にも、承認された医薬品が無い場合あるいは動物実験段階でもより効果が見込める医薬品については使用が検討される事例も考えられる。開発パイプラインの最終段階にある医薬品は、その入手や国内開発の可能性について検討しておく必要があるだろう。

炭疽菌では、ワクチン(AVA)と抗体医薬であるRaxibacumabまたは免疫グロブリンが開発を検討すべき医薬品であると考えられる。全身性の感染である場合には、複数抗生剤の投与に加えて抗毒素剤を使用することが米国CDCに推奨されている。ワクチンについては、(より少ない回数での検討が進められているものの)必要な投与回数の多さや(投与経路の変更によって軽減してはいるものの)副反応を鑑みれば、曝露前に広く接種を行うような機会があることは想定しにくい。しかし、曝露後については、抗生剤予防投与と併せての適応外(緊急時使用許可)による3回接種が想定されている。日本で発生した場合にこのような使用形態がありうるとは想定しておく必要があるだろう。

天然痘については、ワクチンは国内に承認済みの効果と副作用のバランスに優れたLC16m8ワクチンが準備されていることから、米国で開発されているMVA-BNやACAM2000を使用する可能性は低いだろう。治療薬としては、米国では緊急時使用許可のもとTecovirimat (ST246)と Brincidofovir

(CMX001)の使用が想定しうる。日本で実際に患者が発生することがあれば、入手・使用の検討対象となることを想定しておく必要があるだろう。

出血熱については、特にエボラ出血熱について、西アフリカのアウトブレイクを受けて未承認医薬品の開発が急速に展開した。特に医薬品ではギニアにおけるファビピラビルの臨床研究の実施や先進国へ搬送された患者に対する抗血清ほかZMapp, BCX-4430等の使用が多数知られているところである。また、ChAd3やrVSV-EBOVといったワクチンについても臨床治験が急速に展開しているところである。国内では、未承認医薬品を用いた治療については、「患者又は家族の同意を得るとともに、臨床研究プロトコル等の倫理的、医学的な判断が十分なされた方法に従って実施すべきものである」と、一類感染症の治療に関する専門家会議で示されたところである。上記の薬剤については、入手・臨床開発を検討する必要がある。ワクチンについては、曝露前に多数に接種する事態は考えにくい、曝露後予防用として検討する意義がある。

ボツリヌスについては、現在知られている8種類の毒素型のうち7種に対応する7価ボツリヌス抗毒素が米国では承認を受け、米国CDCから供給可能となっている。国内の抗毒素は国有ワクチン類として備蓄がされているものの、ABEF 4 価型とE単価型であり、自然発生の病気に対しては対処可能だが、これ以外の毒素型を使用した人為的散布には対処できないことに注意が必要である。

リシンについては、未だに有望な抗毒素やワクチンは存在しなかった。今後の状況を注視する必要がある。

4. 生物テロ対策に使用しうる薬剤・ワクチン開発や診断薬開発に向けた国内基盤技術の調査研究

イ. BSL 4 病原体代替病原体による感染実験系に関する研究

クリミア・コンゴ出血熱ウイルスの代替モデルとして近縁のハザラウイルスを用いた感染系が有用であることが示唆された。BSL-4施設が稼働していないわが国の現状においてはBSL-4病原体を使用しない代替実験系の確立も研究開発を進める上で重要な課題である。クリミア・コンゴ出血熱ウイルスの代替モデルとして近縁のハザラウイルスを用いた感染系が有用であることが示唆された。

ロ. 出血熱ウイルスの阻害薬のスクリーニング手法に関する研究

本研究で用いたシュードタイプウイルスの遺伝子はVSV由来であるため、VSV自体の複製に対する阻害効果の有無を指標に、阻害効果が認められた化合物に関してフィロウイルスに対する特異性を確認する必要がある。また、エボラウイルス以外のフィロウイルスに関しても、同様の検討が必要である。GFP発現VSVシュードタイプシステムは、エボラウイルスの細胞侵入を阻害する化合物のスクリーニングに有効である。

ハ. iPS細胞を活用したスクリーニング手法の検討

生物テロ対策に使用しうる薬剤開発や診断薬開発に資する iPS 細胞を活用したスクリーニング手法の開発は、米国で既に先行しており、我が国においても国内基盤技術としてその試験系の開発が急務である。

米国等の BSL-4 研究室との共同研究を視野に入れる事により、エボラウイルスの治療法開発の基盤研究において、我が国の iPS 細胞技術を有効活用することが可能であると考えられる。

特にエボラウイルス感染の主要標的臓器が肝臓であることから iPS 細胞技術により再構築された微小肝臓組織の試験プラットフォームを用いる事により、生体内の肝細胞に近い生物学的及び生理学的条件 / 環境下でのエボラウイルスの病原性発現基盤、ウイルスの増殖サイクルの分子メカニズムの解明、さらにエボラウイルスに対する治療薬のスクリーニングが可能となることが期待される。

その際、厚生労働科学研究費補助金 医薬品等規制調和・評価研究事業「ヒト iPS 分化細胞を利用した医薬品のヒト特異的有害反応評価系の開発・標準化」において、一般社団法人日本薬理評価機構が中核となり、我が国の iPS 細胞技術を活用した心臓、肝臓、神経に係る安全性試験系の開発における検証実験データ、および解析データの蓄積、データセットの作成、将来的なトレーサビリティの確保等の医薬品安全性試験用データベース等に最適なデータプラットフォーム等試験プラットフォームの構築が行われており、それとの有機的連携を視野に入れることが有効と考えられる。

E. 結論

米国のバイオサーベイランスの現状、国内の病原体診断キャパシティ、米国の対抗医薬

品・診断薬の開発パイプライン、国内の関連する基盤技術が明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Saito T, Fukushima K, Umeki K, and Nakajima K. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan and Public Health Communication. *Emerging Infectious Diseases*. 2015; 21(3),487-489.

D. Minh Nguyen, 出口弘、市川学、齋藤智也、藤本修平. An Analysis on Risk of Influenza-Like Illness Infection in a Hospital Using Agent-Based Simulation. 2014;14(3):63-74.

Bukbuk DN, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Taniguchi S, Iha K, Fukuma A, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M, Kasolo F, Baba SS. Development and validation of serological assays for viral hemorrhagic fevers and determination of the prevalence of Rift Valley fever in Borno State, Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2014 Dec;108(12):768-73.

Tani H, Iha K, Shimojima M, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kawaoka Y, Nakasone N, Ninomiya H, Saijo M, Morikawa S. Analysis of Lujo virus cell entry using pseudotype vesicular stomatitis virus. *J Virol*. 2014 Jul;88(13):7317-30.

Hiroyuki Yokote, Yasuhiko Shinmura, Tomomi Kanehara, Shinichi Maruno, Masahiko Kuranaga, Hajime Matsui and So Hashizume. Safety of attenuated smallpox vaccine LC16m8 in immunodeficient mice. *Clin. Vaccine Immunol*. 2014, 21(9):1261-66

2. 学会発表

齋藤智也. 感染症の国際情報共有と国際保健規則. 第13回日本予防医学リスクマネジメント学会学術総会 2015年3月7日;東京.

齋藤智也. CBRNテロ対抗医薬品のプリペアドネス. 第20回日本集団災害医学会学術集会. 2015年2月;東京.

齋藤智也, 稲益智子, 須藤弘二, 加藤真吾. 伊豆大島におけるポストパンデミックシーズン(2010/11)の季節性インフルエンザワクチンの有効性; 第18回日本ワクチン学会学術集会; 2014年12月;福岡. 第18

回日本ワクチン学会学術集会抄録集. p.161.

丸野真一, 金原知美, 新村靖彦, 横手公幸, 齋藤智也, 橋爪壮. 国産第三世代痘そうワクチンLC16m8のWHO推奨. 第18回日本ワクチン学会学術集会 福岡(2014.12)

齋藤智也. 合成生物学とセーフティ・セキュリティ. 新学術合成生物学・WPI地球生命研究所 ワークショップ「合成生物学と社会」. 2014年11月;東京.

天野修司, 齋藤智也. 生物学的脅威に対抗するための医薬品の研究開発:米国の事例を中心に. シンポジウム5: Neglected Pitfalls in Development of Medical Countermeasures against Infectious Diseases: Resolution by PPP. 2014年11月;東京. 第55回日本熱帯医学会大会第29回日本国際保健医療学会学術大会2014合同大会プログラム抄録集. p. 58.

齋藤智也, 出口弘, 加藤真吾, 稲益智子, 藤本修平, 市川学. 伊豆大島におけるパンデミック・ポストパンデミックサーベイランスと公衆衛生対応. 第73回日本公衆衛生学会; 2014年10月;宇都宮. 第73回日本公衆衛生学会抄録集. p. 532

出口弘, 齋藤智也, 市川学, 藤本修平. 伊豆大島の事例に基づくインフルエンザ感染プロセスと対策のエージェントベースモデル. 第73回日本公衆衛生学会; 2014年10月;宇都宮. 第73回日本公衆衛生学会抄録集. p.532.

薛キョウ, DungMinh Nguyen, 市川学, 出口弘, 齋藤智也, 藤本修平. 感染症予防分野におけるエージェントベースモデルの活用事例. 第73回日本公衆衛生学会; 2014年10月;宇都宮. 第73回日本公衆衛生学会抄録集. p.532.

齋藤智也. 生物兵器の脅威認識.テロ対策特殊装備展. 2014年10月;東京.

須田遊人, 谷英樹, 西條政幸, 堀本泰介, 下島昌幸. クリミア・コンゴ出血熱ウイルスの株間でのシュードタイプウイルスを利用した抗体への反応性の比較. 第62回日本ウイルス学会学術集会, 2014年11月, 横浜

T Saito. Challenges in MCM preparedness for EVD and other occasions in Japan. 2015 US-Japan Annual Medical Biodefense Research Symposium. 2015年2月. 米国ワシントンDC.

Yasuda J. Rapid and simple detection of ebola viruses. 2015 US-Japan Annual Medical Biodefense Research Symposium.

2015年2月. 米国ワシントンDC.

Inutsuka T. HiPSC in vitro assay system for biosecurity. 2015 US-Japan Annual Medical Biodefense Research Symposium. 2015年2月. 米国ワシントンDC.

Takada A., Yamashita T. R&D efforts with antibodies for ebola virus disease. 2015 US-Japan Annual Medical Biodefense Research Symposium. 2015年2月. 米国ワシントンDC.

G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし