

血液からの重症熱性血小板減少症候群ウイルス等の検出法確立に関する研究

研究分担者 大隈 和 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長

研究要旨:近年我が国ではデングウイルスの国内感染例の発生や海外での重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)の同定に伴う国内感染例の確認等がなされ、国際的な人の移動や新たな病原体の発見等に伴う新興・再興感染症病原体の献血血液等への混入リスクは益々認知されている。そのため、血液への混入状況をいち早く察知し血液製剤のリスクを低減化する必要がある。そこで本研究では、血液製剤の安全性確保と安定供給に貢献することを目的に、既に国内感染が認められ献血血液等におけるスクリーニング法の整備が急がれるSFTSVの高感度核酸検査法の確立を目指す。本年度はこの核酸検査法の開発に向けて、大規模スクリーニング用のプライマーセットをデザインして作製した。今後作製するプローブと併せてリアルタイムRT-PCRによりスクリーニングし、増幅効率が最良のオリゴセットを最終的に同定して本検査法を確立する。

研究協力者

手塚健太 国立感染症研究所 血液・安全性研究部  
研究員

浜口 功 同上 部長

(本研究は、国立感染症研究所 ウイルス第一部、  
日本赤十字社との共同研究である。)

A. 研究目的

輸血用血液を含む血液製剤は、ヒトの血液を原料とすることからウイルス等の病原体混入のリスクが存在する。そのため血液製剤の安全性を担保する上で、血液への病原体の混入をいち早く検出、防止し製造過程より病原体を排除することは極めて重要な課題である。本邦で製造される血液製剤は、抗体検査や NAT 等極めて精度の高い方法によって病原体スクリーニングが実施され、その安全性が担保されてきた。しかしながら、新興・再興感染症の原因ウイルス等に対する検査体制については十分な整備がなされておらず、日本国内への移入に備え早急な対応が求められている。

ダニ媒介性のウイルス感染症である重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は、国内(西日本を中心に)に存在していることが近年分かってきた。しかも、感染報告は少ないものの重篤化することが知られている。原因ウイルスである重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)はウイルス血症を起こすことから血液製剤を介して感染する可能性がある。現在既に感染者診断のための検査法は確立されているが、SFTSVが血液に微量に混入した場合に検出が可能な、より高感度の検出法はまだ確立されていない。

そこで本研究では、血液製剤の安全性強化に向けた、SFTSV に対する新規高感度マルチプレックス核酸検査法を開発することを目的とした。具体的には、核酸検査用の高感度プライマー・プローブセットをデザイン後作製し、大規模スクリーニングすること

により、新規に高感度プライマー・プローブセット

を複数同定し、新規マルチプレックス PCR 法を確立することを旨とする。

B. 研究方法

・既存のSFTSV核酸検査法の応用可能性に関する検討

SFTSVが血液に微量に混入した場合に検出が可能な高感度の検出法を開発を目指して、まずは国内外で既に開発されている診断用のSFTSV核酸検査法を網羅的にサーチし応用可能か検討した。

・新規SFTSV核酸検査法開発のための大規模スクリーニング用プライマーセットの作製

新規SFTSV核酸検査法の開発に向けて、SFTSV J1株のRNAゲノムのデータベースを基に、大規模スクリーニング用のプライマーセットを設計し作製した。

C. 研究結果

・既存のSFTSV核酸検査法の応用可能性に関する検討

国内外で既に開発されているSFTSVの核酸検査法を網羅的にサーチし応用可能か検討した。しかし、これまでの検出系では不十分と考えられた。そのため、新規の核酸検査法を別途開発することとし、そのためのプライマーのデザインと作製を検討した。

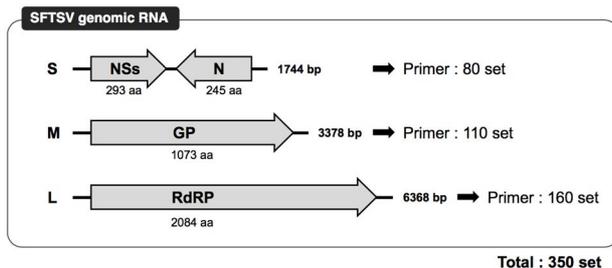
・新規SFTSV核酸検査法開発のための大規模スクリーニング用プライマーセットの作製

上記の検討の結果、新規高感度マルチプレックス核酸検査法を開発のために、大規模スクリーニング用のプライマーセットを、J1 株に対し、S 分節を 80 セット、M 分節を 110 セット、L 分節を 160 セット(合計 350 セット)デザインして合成した。

今後は、これらのオリゴセットをリアルタイム

RT-PCRによりスクリーニング(SYBR)し、最も増幅効率の良いセットを選別する。選別されたプライマーをもとにプローブも作製し、再度リアルタイムRT-PCRによるスクリーニング(TaqMan)を実施し、最終的に最も増幅効率の良いプライマー・プローブセットを選択する。それによりSFTSVに対する新規核酸検査法を確立する。

#### SFTSVのゲノム構造と核酸検出用プライマーの設計



H. 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

#### D. 考察

SFTSVの国内感染は毎年報告されており、報告数は少ないものの重篤化することが知られている。SFTSVはウイルス血症を引き起こすため、血液への混入状況をいち早く察知し血液製剤のリスクを低減化する必要がある。しかしながら、SFTSVに対する核酸検査法は、診断用には確立されているものの、血液スクリーニング用としては整備されていない。そのため、SFTSVが血液に僅かに混入した場合でも検出が可能な高感度の検出法の開発を早急に行う必要がある。

本研究で行う大規模スクリーニングにより選別するプライマー・プローブセットは、極めて増幅効率の優れたオリゴセットが同定されることが考えられることから、開発される本検査法は今後の血液スクリーニング用の核酸検査法の1つとして活用が期待される。

#### E. 結論

本研究により開発されるSFTSVの高感度検出系は、献血血液等のスクリーニングに活用でき、供血者の感染(ウイルス血症)を高感度に検出することで、受血者の感染リスクを軽減することが可能と考えられる。本開発は、SFTSVに関する血液安全対策の準備・整備の一環となり、この活用は血液製剤の安全性強化と安定供給の確保に繋がることが期待される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

