

我が国で開発され、備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの有効性、安全性、生産性向上
および国内外のバイオテロ対策のあり方に関する研究

分担報告書

出血熱ウイルスを含むバイオテロ関連病原ウイルス検出法の改良

所 属 国立感染症研究所
ウイルス第一部・室長
研究分担者 下島 昌幸

研究要旨:

ニパウイルスは致命率の高い感染症を引き起こし、その予防法や治療法で確立されたものはないため、バイオテロで用いられうる病原体である。バイオテロ発生において、実験室診断は用いられた病原体の特定やバイオテロの規模の把握を可能にする。病原体を特定する実験室診断の準備とその安全な実施が重要である。

バイオテロ対策の 1 つである実験室診断を安全に行なうため、ニパウイルスを想定し、検体処理条件(ウイルス不活化条件)を明らかにした。

ウイルスを添加したヒト血清を熱処理あるいは紫外線処理のみではウイルスの不活化は十分ではなかったが、併用により完全なウイルスの不活化が得られた。血清学的な実験室診断を安全に行なうための検体処理条件の 1 つを明らかにできた。最新情報に基づいた実験室診断の向上や遺伝子検出のための検体処理条件の検討も必要である。

研究協力者

渡辺俊平・岡山理科大学・准教授

するため、処理した血清を Vero 細胞へ接種し、3 回細胞を継代し、この間の細胞変性効果の出現の有無で判断した。熱と紫外線の双方の処理も行なった。いずれも 3 点ずつで行なった。

A. 研究目的

ニパウイルスは致命率の高い感染症を引き起こし、その予防法や治療法で確立されたものはないため、バイオテロで用いられうる病原体である。バイオテロ発生において、実験室診断は用いられた病原体の特定やバイオテロの規模の把握を可能にする。病原体を特定する実験室診断の準備とその安全な実施が重要である。バイオテロ対策の 1 つである実験室診断を安全に行なうため、ニパウイルスを想定し、検体処理条件(ウイルス不活化条件)を明らかにする。

【倫理面への配慮】

該当なし

B. 研究方法

検体にニパウイルスが含まれると想定し、ニパウイルスを添加したヒト血清を熱処理(56°C, 30 分)あるいは紫外線処理(312nm, 2.5mW, 30 分)した。生きたニパウイルスの存在の有無を判断

C. 研究結果

検体にニパウイルスが含まれると想定し、実験室診断を行なうための検体処理条件(ウイルス不活化条件)を検討した。ウイルスを添加したヒト血清を熱処理(56°C, 30 分)あるいは紫外線処理(312nm, 2.5mW, 30 分)のみではウイルスの不活化は十分ではなかった(それぞれ 2/3, 1/3 のチューブで不完全)が、併用により完全なウイルスの不活化が得られた(図1)。

D. 考察

ニパウイルス感染症を疑う事例において、血清

学的な実験室診断を安全に行なうための検体処理条件を明らかにできた。

E. 結論

最新情報に基づいた実験室診断の向上や遺伝子検出のための検体処理条件の検討も必要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tani H, Komeno T, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Shimojima M, Uda A, Morikawa S, Nakajima N, Furuta Y, Saijo M. Therapeutic effects of favipiravir against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in a lethal mouse model: Dose-efficacy studies upon oral administration. *PLoS One*. 2018 Oct 26;13(10):e0206416. doi: 10.1371/journal.pone.0206416. eCollection 2018.
- 2) Kimura T, Fukuma A, Shimojima M, Yamashita Y, Mizota F, Yamashita M, Otsuka Y, Kan M, Fukushi S, Tani H, Taniguchi S, Ogata M, Kurosu T, Morikawa S, Saijo M, Shinomiya H. Seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus antibodies in humans and animals in Ehime prefecture, Japan, an endemic region of SFTS. *J Infect Chemother*. 2018 Oct;24(10):802-806. doi: 10.1016/j.jiac.2018.06.007. Epub 2018 Jul 13.
- 3) Demetria C, Smith I, Tan T, Villarico D, Simon EM, Centeno R, Tachedjian M, Taniguchi S, Shimojima M, Miranda NLJ, Miranda ME, Rondina MMR, Capistrano R, Tandoc A 3rd, Marsh G, Eagles D, Cruz R, Fukushi S. Reemergence of Reston ebolavirus in *Cynomolgus* Monkeys, the Philippines, 2015. *Emerg Infect Dis*. 2018 Jul;24(7):1285-1291. doi: 10.3201/eid2407.171234.
- 4) Yamada S, Shimojima M, Narita R, Tsukamoto Y, Kato H, Saijo M, Fujita T. RIG-I-Like Receptor and Toll-Like Receptor Signaling Pathways Cause Aberrant Production of

Inflammatory Cytokines/Chemokines in a Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection Mouse Model. *J Virol*. 2018 Jun 13;92(13). pii: e02246-17. doi: 10.1128/JVI.02246-17. Print 2018 Jul 1.

- 5) Ogawa M, Shirasago Y, Ando S, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M. Caffeic acid, a coffee-related organic acid, inhibits infection by severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in vitro. *J Infect Chemother*. 2018 Aug;24(8):597-601. doi: 10.1016/j.jiac.2018.03.005. Epub 2018 Apr 5.
 - 6) Matsumoto C, Shinohara N, Furuta RA, Tanishige N, Shimojima M, Matsubayashi K, Nagai T, Tsubaki K, Satake M. Investigation of antibody to severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) in blood samples donated in a SFTS-endemic area in Japan. *Vox Sang*. 2018 Apr;113(3):297-299. doi: 10.1111/vox.12629. Epub 2018 Jan 22.
 - 7) Suda Y, Chamberlain J, Dowall S, Saijo M, Horimoto T, Hewson R, Shimojima M. The development of a novel diagnostic assay that uses a pseudotyped vesicular stomatitis virus for the detection of neutralising activity to Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Jpn J Infect Dis*. 2018 May 24;71(3):205-208. doi: 10.7883/yoken.JJID.2017.354. Epub 2018 Apr 27.
- ##### 2. 学会発表
- 1) Tomoki Yoshikawa, Satoshi Taniguchi, Hirofumi Kato, Hikaru Fujii, Miho Shibamura, Shumpei Watanabe, Kazutaka Egawa, Takuya Inagaki, Satoko Sugimoto, Supranee Phanthanawiboon, Shizuko Harada, Takeshi Kurosu, Shuetsu Fukushi, Masayuki Shimojima, Souichi Yamada, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo. Protection of mice from a lethal challenge with SFTS virus by immunization with a novel recombinant LC16m8 expressing SFTS virus genes. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 28, 2018, Kyoto (W1-2-07)
 - 2) Shuetsu Fukushi, Satoshi Taniguchi, Shumpei Watanabe, Takeshi Kurosu, Tomoki

- Yoshikawa , Masayuki Shimojima , Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo. Re-emergence of Reston Ebola virus in Cynomolgus monkeys in the Philippines, 2015. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 28, 2018, Kyoto (W1-2-19)
- 3) Ryotaro Nouda , Takahiro Kawagishi , Yuta Kanai, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Yoshiharu Matsuura , Takeshi Kobayashi. Fusogenic bat-borne orthoreovirus p17 protein regulates viral replication in a host-specific manner. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 28, 2018, Kyoto (W1-6-03)
 - 4) Satoshi Taniguchi , Tomoki Yoshikawa , Masayuki Shimojima , Shuetsu Fukushi , Takeshi Kurosu, Hideki Tani, Fumihiro Kato, Takahiro Maeki , Shigeru Tajima , Chang-Kweng Lim , Shigeru Morikawa , Masayuki Saijo. Study of the role of untranslated regions of the S segment genome of Lymphocytic Choriomeningitis Virus. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 29, 2018, Kyoto (W2-4-09)
 - 5) Eun-Sil Park, Masayuki Shimojima, Tomoki Yoshikawa, Noriyo Nagata, Naoko Iwata , Shuetsu Fukushi , Shumpei Watanabe , Yasushi Ami, Takeshi Kurosu, Ken Maeda, Koichi Imaoka , Masayuki Saijo , Shigeru Morikawa. SFTS virus causes lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome in cats. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 29, 2018, Kyoto (W2-4-10)
 - 6) Supranee Phanthanawiboon, Takeshi Kurosu, Masayuki Shimojima , Shuetsu Fukushi , Tomoki Yoshikawa , Shumpei Watanabe , Tadaki Suzuki, Noriyo Nagata, Naoko Iwata-Yoshikawa , Masayuki Saijo. Hematopathogenesis of chimeric dengue mouse model. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 29, 2018, Kyoto (W2-6-02)
 - 7) Takeshi Kurosu, Daisuke Okuzaki, Shuetsu Fukushi , Masayuki Shimojima , Supranee Phanthanawiboon , Masayuki Saijo. Inflammation amplifier plays a critical role in severe dengue hemorrhagic fever. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 29, 2018, Kyoto (W2-6-06)
 - 8) Masayuki Shimojima , Taishi Onodera , Yoshimasa Takahashi , Satoko Sugimoto , Shuetsu Fukushi, Takeshi Kurosu, Tomoki Yoshikawa , Masayuki Saijo. Therapeutic effects of human monoclonal antibodies to SFTS virus. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 30, 2018, Kyoto (W3-5-13)
 - 9) Takahiro Kawagishi , Yuta Kanai , Yusuke Sakai, Ryotaro Nouda, Hideki Tani, Masayuki Shimojima , Masayuki Saijo , Yoshiharu Matsuura , Takeshi Kobayashi. Nelson Bay reovirus σ C body domain is associated with strain-specific differences in viral replication. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 30, 2018, Kyoto (W3-6-03)
 - 10) Motohiko Ogawa, Yoshitaka Shirasago, Shuji Ando, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Masayoshi Fukasawa. Caffeic acid, a coffee-related organic acid, inhibits infection with severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 28, 2018, Kyoto (P1-AV-29)
 - 11) Hikaru Fujii, Hideki Tani, Kazutaka Egawa, Satoshi Taniguchi , Tomoki Yoshikawa , Chang-Kweng Lim, Mutsuyo Takayama-Ito, Takahiro Maeki, Takeshi Kurosu , Shuetsu Fukushi, Masayuki Shimojima, Akihiko Uda, Shigeru Morikawa , Masayuki Saijo. Establishment of an animal model of Heartland virus infection and evaluation of the efficacy of ribavirin and T-705 in vitro and in vivo. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 28, 2018, Kyoto (P1-AV-31)
 - 12) Miyuki Kimura , Kazutaka Egawa , Masayuki Shimojima , Hikaru Fujii , Hiroshi Yamada , Long Tan, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, Hideki Tani. Characterization of pseudotyped vesicular stomatitis virus bearing the Heartland virus envelope protein. The 66th

Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Oct 28, 2018, Kyoto (P1-VE-09)

- 14) 下島昌幸, 谷口怜, 網康至, 永田典代, 福士秀悦, 黒須剛, 渡辺俊平, 谷英樹, 福間藍子, 岩田奈織子, 西条政幸 重症熱性血小板減少症候群 SFTS の霊長類致死モデル SFTS 研究会 2018年9月 東京
- 15) 藤井ひかる, 谷英樹, 谷口怜, 吉河智城, 林昌宏, 伊藤睦代, 前木孝洋, 黒須剛, 福士秀悦, 下島昌幸, 宇田晶彦, 米納孝, 古田要介, 森川茂, 西条政幸 SFTSV および HRTV 感染におけるリバビリンおよびファビピラビルの抗ウイルス効果の比較(シンポジウム) SFTS 研究会 2018年9月 東京
- 16) 末盛浩一郎, 東太一, 山中篤志, 姫路大輔, 川村昌史, 葉久貴司, 大毛宏喜, 谷口智宏, 今滝修, 高橋徹, 石田正之, 日高道弘, 金子正彦, 池田賢一, 上国料千夏, 垣花泰之, 石丸敏之, 竹中克斗, 下島昌幸, 河野茂, 西条

政幸, 安川正貴 重症熱性血小板減少症候群に対するファビピラビルの有効性と安全性の検討(シンポジウム) SFTS 研究会 2018年9月 東京

17) Masayuki Shimojima. Epidemiological study on severe fever with thrombocytopenia syndrome. 15th Taiwan-Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative Project Reports. Sep 3-4, 2018, Taipei

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1. 特許取得
該当なし
- 2. 実用新案登録
該当なし
- 3. その他
該当なし

- ニパウイルスもバイオテロで用いられうる
- 実験室診断の安全な実施の確保

成果

- 疑似検体におけるウイルスの完全な不活化は熱処理と紫外線処理の併用で得られることが判明
 - 熱処理のみ(56°C, 30分)では不完全
 - 紫外線処理のみ(312nm, 2.5mW, 30分)でも不完全

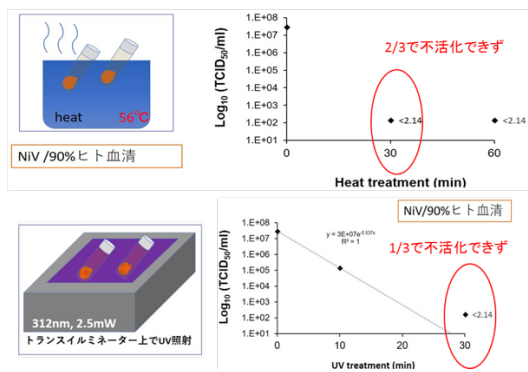


図1. 平成 30 年度に実施されたニパウイルスの不活化条件の検討