

厚生労働行政推進調査事業費補助金
厚生労働科学特別研究事業

エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログ
の培養細胞における抗ウイルス効果の検証
(22CA2025)

令和4年度 総括・分担研究報告書

令和5(2023)年 5月

研究代表者 海老原 秀喜
(国立感染症研究所)

目 次

I. 総括研究報告

エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証 海老原 秀喜	4
--	---

II. 分担研究報告

抗ウイルス薬の毒性評価等に関する体制づくり 下島 昌幸	11
--------------------------------	----

核酸アナログ処理による宿主細胞因子産生への影響の検証 黒須 剛	14
------------------------------------	----

核酸アナログの抗ウイルス効果をBSL4で検証する実験系の確立と検証 吉河 智城	18
--	----

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	21
---------------------	----

I . 総括研究報告

エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における 抗ウイルス効果の検証

研究代表者 海老原秀喜
国立感染症研究所 ウイルス第一部長

研究要旨：エボラウイルス等の特定一種病原体によって引き起こされるウイルス性出血熱は、致命率が高く、さらに患者の血液や体液を介した二次感染を起こすことから、日本国内で発生した場合の個人及び社会に対する影響は甚大である。加速度的に変化する世界情勢に直面する中、今後、国内への一類感染症の発生のリスクが以前より増加することが予想される。現状、国立感染症研究所の高度封じ込め（BSL-4）施設において輸入事例やバイオテロに備え、感染性ウイルスを用いることにより、迅速で精度の高い病原体の検出・一類感染症の検査法の整備を進めてきた。一方、迅速に確定診断が下されたとしても、日本国内では、これらの疾患に対する既承認の有効な治療薬が無く、早期に有効な抗ウイルス治療を開始するためには、特定一種病原体対策に資する治療薬承認に向けた科学的データの蓄積は急務の課題である。

本課題では、新型コロナウイルスの治療薬として国内既承認のレムデシビル、モルヌピラビル及び広範囲のRNAウイルスへの抗ウイルス効果が確認されているファビピラビル等のエボラ出血熱等に対する治療効果が期待される核酸アナログを対象とし、当該薬剤のウイルス増殖抑制効果を、病態で重要な感染標的細胞種を含む培養細胞系を用いて評価・検討することを当初の目的とした。一方、レムデシビルに関しては、アフリカにおけるエボラ出血熱患者を対象とした臨床試験において致死率の低減・治療効果が他の中和抗体薬に比べて低い事が示された。このような背景から、「抗ウイルス薬として汎用性の高い核酸アナログ製剤が、臨床試験においても、ウイルス性出血熱に対してより優れた致死率低減効果を発揮する」ための課題点を、各種手法を用いて再検証し、科学的エビデンスを蓄積することが、現状、国内においてウイルス性出血熱の治療に使用される可能性の最も高い核酸アナログ薬の抗ウイルス効果の実践的な再検証と運用に貢献すると考えた。

本課題の実施により、エボラウイルスの主要感染標的細胞であるマクロファージにおいて、3種類の核酸アナログ製剤が、エボラウイルスの表面糖タンパク質を有するサロゲートウイルスに対して顕著な抗ウイルス活性を示さなかったこと、LPSによって活性化したマクロファージへのファビピラビルの接種が、エボラ出血熱症例で検出される炎症性サイトカインの産生を誘導すること等、核酸アナログによる抗ウイルス薬治療に関して、新たな知見が得られた。本結果は、今後、BSL-4において、実際のウイルスを用いて、さらなる確認・評価が必要である。一方、これらの詳細な薬剤性状は、これまでに報告されていない。本課題の遂行は、今後実施されるBSL-4施設における感染性エボラウイルスを用いた核酸アナログの抗ウイルス活性の評価、臨床試験の実施、さらに核酸アナログによる抗ウイルス治療の開発と有効的な活用等に貢献する非常に重要な知見を与えるものであり、今後、動物モデルを用いた前臨床試験も含めて、さらなる検証が必要だと考えられる。総じて、本課題の実施は、BSL-4施設内の抗ウイルス薬の前臨床評価体制の整備に加えて、国内における特定一種病原体に対する治療体制の強化を始めとした厚生労働省が推進する新興・再興感染症等の感染拡大時における医療提供体制及び健康危機管理体制の確立・確保に活用に大きく貢献するものである。

研究分担者氏名

下島昌幸
国立感染症研究所 ウイルス第一部長
黒須剛
国立感染症研究所 ウイルス第一部主任研究官
吉河智城
国立感染症研究所 ウイルス第一部主任研究官

A. 研究目的

エボラウイルス等の多くのRNAウイルスは、増殖の際に核酸を取り込んで自身のゲノムを複製する共通の分子メカニズムを有している。このメカニズムを標的として開発された一部の核酸アナログ製剤は、広範囲のRNAウイルスに対して高い抗ウイルス効果を示すことが知られている。これら

の核酸アナログ製剤のうちレムデシビル及びファビピラビルに関して、アフリカのエボラ出血熱のアウトブレイク発生時に臨床治験が行われている。しかしながら、これらの薬剤によるエボラ出血熱の治療は、未治療群に比べて、治療効果は認められたものの、他の中和抗体製剤による治療に比べて、致死率の低減効果が低いことが示された。一方、国内においてウイルス性出血熱が発生した場合、既に臨床治験が実施されている核酸アナログ製剤が、緊急使用の第一選択になることが想定される。しかし、これらの核酸アナログ製剤をエボラ出血熱等へ使用することを念頭においた詳細な抗ウイルス活性の評価や性状解析は、国内において行われてこなかった。

このような背景から、本研究課題は新型コロナウイルスに対する既承認治療薬（レムデシビル、モルヌピラビル）及び新型インフルエンザの流行に備えて備蓄されているファビピラビル等の核酸アナログ製剤が、病原性発現機序に深く関係している主要標的細胞のマクロファージ（免疫担当細胞）と肝臓細胞においても、特定一種病原体（エボラウイルス等）に対して抗ウイルス活性を発揮できるかを評価すると共に詳細な性状を科学的に検証することを目的とした。

一方、令和4年度には、サル痘の世界的流行及び国内への輸入例に加えて国内発生例の発生が起きた。弊部は、BSL-4 業務を含む所掌業務及びCOVID-19 対応に加えて、サル痘に係る公衆衛生行政対応及び国内における治療体制とサル痘へのワクチン対応に関する特定臨床研究の調整及びサポート業務を優先せざる得なくなった。このような背景から、本課題において、「抗ウイルス薬として汎用性の高い核酸アナログ製剤が、臨床治験においても、ウイルス性出血熱に対してより優れた致死率低減効果を発揮する」ための課題点に関する科学的知見を収集・蓄積することに主眼を置く事とした。本課題を遂行することにより、国内におけるウイルス性出血熱の治療に使用される可能性の最も高い核酸アナログ薬の抗ウイルス効果の信頼性と運用性検証につながることから、これらの検証結果を基にBSL-4 施設を用いて、感染性のエボラウイルス等に対する核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果の再評価・再検証を速やかに開始する。

各分担研究の目的は以下に述べる。

(1) 抗ウイルス薬の毒性評価等に関する体制づくり：

これまでレムデシビル等の核酸アナログの細胞毒性評価は、通常、抗ウイルス薬の活性評価に用いられるVero細胞（アフリカミドリザル腎臓細胞）等を用いて行われており、抗ウイルス薬に対する細胞の応答が、実際のヒトにおけるウイルス感染の主要標的細胞のものとは大きく異なる可能性がある。このような背景から、ウイルスの主要感染標的である肝臓や単球系の培養細胞を用いて、核酸アナログのより精度の高い細胞毒性と有効濃度の指針となるデータの蓄積を行う。

(2) 核酸アナログ処理による宿主細胞因子産生への影響の検証：

エボラウイルス等の出血熱を引き起こすウイルスは、免疫担当食細胞であるマクロファージ

に感染し、感染個体内でウイルス感染を拡大する。同時に、ウイルスの感染により炎症応答が誘導され、炎症性メディエーター（サイトカイン、ケモカイン等）や血液凝固活性化因子等が過剰に産生されることが知られている。このウイルス感染マクロファージにおいて誘導される過剰な炎症性応答が全身で起きることによって、出血熱を重症化させるサイトカインストーム（全身性炎症応答症候群）を引き起こすと考えられている。一方、レムデシビル等の核酸アナログが、マクロファージの炎症性応答誘導能にどのような影響を与えるかの解析は行われていない。仮に核酸アナログ自体が、炎症性応答を誘導する性状を有していた場合には、これらの薬剤によってウイルスの増殖は抑制されるものの、感染個体における炎症性応答を増強させてしまう可能性も否定できない。このような背景から、レムデシビル等の核酸アナログが、リポポリサッカライド（LPS）によって既に活性化されたマクロファージにおける炎症応答誘導にどのような影響を与えるかを解析し、得られた結果を、今後、行う感染性エボラウイルス等の特定一種病原体とマクロファージを用いた核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果の評価と検証に活用する。

3) 核酸アナログの抗ウイルス効果をBSL4 で検証する実験系の確立と検証：

本課題の大きな研究目標の1つである「ヒトにおける出血熱ウイルスの主要感染標的細胞を用いた核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果の体系的な評価と検証」をBSL-4 施設内で行うに当たり、有効濃度のレンジ、効果を検証するために適切な培養細胞及び試験方法の選択をBSL-2 レベルで検討・確定する。本実験の実施は、作業負荷が高いBSL-4 において感染性ウイルスを用いた抗ウイルス薬の評価を安全且つ高精度に行うためには必須である。そこでエボラウイルス表面糖タンパク質（GP）をウイルス粒子上に保持する組換えブタ水疱性口内炎ウイルス（rVSV-ZaireGP）をエボラウイルスのサロゲート（代理）ウイルスとして用いて、核酸アナログであるファビピラビル、モルヌピラビル、レムデシビルのrVSV-ZaireGP に対する抗ウイルス効果を評価・検証を、ヒトのマクロファージ及び肝細胞を用いて行う。この課題の実施により、マクロファージ等の感染標的細胞において、核酸アナログがエボラ類似ウイルスに対してもウイルス増殖抑制効果を発揮するかの詳細な検証が可能となる。

4) BSL-4 施設における抗ウイルス薬の前臨床評価及び臨床研究の実施体制の整備：

本研究の遂行により、BSL-4 施設において感染性のエボラウイルスを用いた治療・抗ウイルス薬の前臨床評価試験を開始することが可能となることから、BSL-4 施設内のグローブボックス内に、培養細胞及び動物モデルを用いた治療薬評価と患者発生時に抗ウイルス薬治療の効果検証を実施するための機器の設置及び体制整備を行う。

B. 研究方法

各分担課題の研究の詳細は、分担研究報告書を参照のこと。

1) 研究の総括:

研究代表者は、研究の総括及び調整を行った。また国立感染症研究所内の関係部署各位と情報共有と連携を図り、BSL-4 施設内の設備機器の整備や感染性特定一種病原体を用いた感染実験を行う環境の整備を行った。

2) 抗ウイルス薬の毒性評価等に関する体制づくり:

エボラウイルス等の特定一種病原体の主要感染標的である肝臓や単球系の培養細胞に対する毒性を、細胞増殖測定試薬を用いて測定し、核酸アナログ製剤の病原性に関わる標的細胞における細胞毒性と抗ウイルス活性を示す有効濃度の指針を示す結果を算出した。

3) 核酸アナログ処理による宿主細胞因子産生への影響の検証:

ヒト単球由来細胞である THP-1 をマクロファージに分化後、各種薬剤存在下で細胞の LPS (リポサッカライド) 処理を行い、24 時間後に培養上清中の炎症性サイトカイン・ケモカインなど 30 種類の宿主因子濃度を測定した。LPS はエボラウイルスの表面糖タンパク質 (GP) と同様のメカニズムで Toll-Like レセプター 4 (TLR4) と結合し、マクロファージに炎症性応答を誘導することから、マクロファージに LPS 処理を行ってから、核酸アナログによる炎症性メディエーターの産生を測定した。

4) 核酸アナログの抗ウイルス効果を BSL4 で検証する実験系の確立と検証:

エボラウイルスの糖タンパク質 (GP) を粒子表面に提示している組換えブタ水疱性口内炎ウイルス (rVSV-ZaireGP) は、エボラウイルスと同じ機構を用いて、標的細胞に感染することから、BSL-2 実験室において、エボラウイルスのサロゲートウイルスとして実験に用いることができる。この性状を利用し、3 種類の核酸アナログ製剤の rVSV-ZaireGP に対する抗ウイルス効果を、フィロウイルス (エボラウイルス、マールブルグウイルス) 感染の主要な感染標的細胞である肝細胞由来 Huh-7 細胞と単球/マクロファージ由来 THP-1 の 2 種類の細胞を用いて評価を行った。

【倫理面への配慮】

該当なし

C. 研究結果

本研究科課題の実施において、サル痘の国内発生に係る各種対応業務及び BSL-4 施設の定期総合点検の実施により、当初予定していた BSL-4 施設を用いた特定一種病原体に対する核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果の評価を実施することが困難となったが、「抗ウイルス薬として汎用性の高い核酸アナログ製剤が、臨床治験においても、ウイルス性出血熱に対してより優れた致死率低減効果を発揮する」ための課題点に関する科学的知見を提供する研究成果を得た。

まず、国内の使用で第一選択となり得るレムデシビルのマクロファージ及び肝細胞での細胞毒性が、他の薬剤に比べて高いことが明らかになった。

また重要な発見として、LPS によって炎症応答が誘導されたヒトマクロファージにおいて、ファビピ

ラビルの接種が、特定の炎症性サイトカイン・ケモカイン産生をさらに促進することが明らかになった。特に幾つかのサイトカイン・ケモカインはエボラ出血熱の重篤度と致死率に関与していることが報告されており、さらなる詳細な解析と検証が必要になると考えられた。

さらにエボラウイルスのサロゲートウイルスである rVSV-ZaireGP を用いた感染マクロファージにおける核酸アナログ製剤のウイルス増殖抑制効果の評価実験において、非常に重要な結果を得ることができた。本実験で使用した薬剤濃度では、Huh-7 (肝細胞) を用いて薬剤の抗ウイルス活性を評価した時、ファビピラビルのみで顕著なウイルス産生量の抑制が確認された。驚くべきことに THP-1 (マクロファージ) を用いて評価した場合ファビピラビルを含む全ての薬剤でウイルス産生量の顕著な抑制は確認されなかった。これらの結果は、実際のエボラウイルス等で確認実験を行う必要があるものの、核酸アナログ製剤の抗ウイルス活性が、細胞の種類によって異なることを示唆している。

最後に、本研究課題の遂行により、BSL-4 施設内のグローブボックス内に、Molecular Device 社の Spectramax (薬剤の細胞毒性の検証や細胞増殖能の解析、感染動物及び患者血清中の微量な抗体を検出) の設置を行い、今後、培養細胞及び動物モデルを用いた治療薬評価と患者発生時に抗ウイルス薬治療の効果検証を実施するための環境を整備した。また、国立感染症研究所内の高度封じ込め施設安全委員会を含む関係部署各位と情報共有と連携を図り、本課題の研究結果を踏まえた感染性特定一種病原体に対する核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果の評価を迅速に実施するための体制整備が為された。

D. 考察

エボラウイルス等の特定一種病原体によって引き起こされるウイルス性出血熱は、致死率が高く、さらに患者の血液や体液を介した二次感染を起こすことから、日本国内で発生した場合の個人及び社会に対する影響は甚大である。加速度的に変化する世界情勢に直面する中、今後、国内への一類感染症の発生のリスクが以前より増加することが予想される。一方、日本国内では、これらの疾患に対する既承認の有効な治療薬が無く、早期に有効な抗ウイルス治療を開始するためには、特定一種病原体対策に資する治療薬承認に向けた科学的データの取得を開始する必要がある。

国外においては、エボラウイルス等に対する抗ウイルス薬の研究が精力的に行われており、複数のクラスの抗ウイルス薬候補が開発されている。その中でもウイルスの細胞への侵入をブロックし、免疫細胞によるウイルス抗原認識を促進する中和抗体薬とエボラウイルス等の多くの RNA ウイルスが増殖の際に核酸を取り込んで自身のゲノムを複製する共通の分子メカニズムを標的としてウイルスの増殖を抑制する核酸アナログ製剤が、エボラ出血熱の治療薬として欧米において緊急使用薬として承認されている。

国内においては、エボラ出血熱に対する臨床治験の実績を有するレムデシビル (COVID-19 の治療薬として国内承認がされている) 及びファビピラ

ビル（新型インフルエンザの流行に備えて備蓄されている）が中和抗体薬と比べ入手が容易であり、エボラ出血熱の発生時に使用される抗ウイルス薬の第一選択薬群となると考えられる。従って、本研究課題によって得られた研究成果は、核酸アナログ製剤の臨床展開を軸とした特定一種病原体に対する治療体制の確立・整備に非常に重要な科学的知見を提供するものである。

本研究課題では、大学等で行われている新規抗ウイルス薬の探索を軸とする基盤的研究とは異なり、現状において国内承認に近い薬剤候補（核酸アナログ製剤）の特定一種病原体（エボラウイルス、ラッサウイルス等）に対する抗ウイルス効果の評価及び再検証を行うことを研究目的としていた。一方、レムデシビルについては、培養細胞及び動物モデルにおいて、高い抗ウイルス効果を示したものの、アフリカでのエボラ出血熱アウトブレイク発生時の臨床治験において、中等度～重症の患者においては、顕著な治療効果は認められず、他の中和抗体製剤に比べても致死率の低減効果が低いことが示されている。従って、実際のエボラウイルス等を用いた核酸アナログ製剤候補の抗ウイルス効果の詳細な再検証を行う前に、「抗ウイルス薬として汎用性の高い核酸アナログ製剤が、臨床治験においても、ウイルス性出血熱に対してより優れた致死率低減効果を発揮する」ための課題点についての詳細な再検証を実施し、より信頼度と実践性の高い抗ウイルス薬の評価を可能とする科学的なエビデンスを蓄積する必要がある。本課題の実施により、臨床治験で観察された結果との関連が示唆される核酸アナログ製剤の感染主要標的細胞における動態が明らかになったことは、本研究課題の大きな成果と言える。

本課題の特筆すべき成果の1つは、マクロファージにおける核酸アナログ製剤による炎症性誘導の促進と細胞種特異的なウイルス増殖抑制効果に関する新たな知見を提供したことである。エボラ出血熱や他のウイルス性出血熱において、マクロファージは、ウイルスが最初に感染する標的細胞であり、ウイルス感染マクロファージが二次標的臓器・器官に広がることによって全身感染を引き起こす。さらに（エボラ）ウイルスの表面糖タンパク質（GP）とマクロファージ上に発現しているToll-Likeレセプター4（TLR4）と結合し、活性化することにより、過剰な炎症性応答を誘導すると考えられている。本分担課題では、LPSとTLR4の結合により炎症性応答の誘導が活性化されたマクロファージを核酸アナログ製剤で処理した時の炎症性応答の誘導を測定した結果、ファビピラビル処理をしたマクロファージではLPSのみで処理をしたマクロファージと比べて、炎症性サイトカイン・ケモカインの有意な産生上昇が観察された。特に、顕著に産生増加が認められたMIP- α 、MIP- β 、IL-1 β 、IL-6及びTNF- α はエボラ出血熱患者で重症化もしくは死亡した患者で顕著に血中濃度の上昇が確認されている炎症性メディエーターである。これらの結果は、マクロファージ等の炎症性応答を司る細胞を用いて、核酸アナログ製剤によるウイルス増殖の抑制効果を評価する時に、同時に薬剤によって誘導される過剰な炎症性応答についても解析が必要であること、さらにウイルス性出血熱

を発症している感染個体に対して核酸アナログ製剤による治療を行う場合には、宿主の炎症性応答への影響を注意深く検証する必要があることを示唆している。

さらに、ヒトマクロファージ系列の細胞において、核酸アナログ製剤がエボラウイルスのサロゲートウイルスであるrVSV-ZaireGPに対して顕著なウイルス増殖抑制効果を示さないことが、本研究によって明らかになった。一方、rVSV-ZaireGPは、ヒト病原体ではないブタ水疱性口内炎ウイルス（VSV）のウイルス表面上にエボラウイルスの表面糖タンパク質を保持しているシュードタイプ（エンベロープだけがエボラウイルスの偽型ウイルス）であり、エボラウイルスと同じ感染機構によって細胞に吸着・侵入するものの、他のウイルス増殖環は、実際のエボラウイルスと異なるため、これらの実験結果について、実際のエボラウイルスを用いた実験や動物実験等によって、さらなる検証が必要である。

本課題で得られた成果は、厚生科学審議会や薬事・食品衛生審議会における検討のための基礎資料として活用され、現状、特定一種病原体に対する特異的な治療法が無い我が国において、緊急時対応に使用する抗ウイルス薬の速やかな承認につながることを期待される。本研究によって明らかになった核酸アナログ製剤の出血熱ウイルスに対する抗ウイルス効果と性状に関する新しい知見について、今後、エボラウイルス等、実際の特定一種病原体を用いて、注意深く検証を重ねることにより、これらの安全性が確認された薬剤がー類感染症（ウイルス性出血熱）に対する治療薬候補として、より信頼度の高い評価法によって選択・運用がされることが期待される。一類感染症の輸入及び国内発生が起きる前に、本研究課題によって明らかになった知見も含めて、多くの科学的なエビデンスを蓄積することにより、複数の薬剤候補が選択・備蓄され、仮に国内においてウイルス性出血熱が発生したとしても、迅速且つ安全に特定臨床研究の実施に繋がることが期待される。

E. 結論

本研究課題によって得られた知見・検証と抗ウイルス薬として汎用性の高い核酸アナログ製剤のウイルス性出血熱の治療への有効性の向上に貢献する研究成果は、厚生労働省が推進する新興・再興感染症等の感染拡大時における医療提供体制及び健康危機管理体制の構築、特に迅速な新規抗ウイルス・治療薬の開発・評価・確保の分野に活用されるべき成果である。さらに本課題の実施は、BSL-4施設を用いた特定一種病原体に対する治療法の研究開発を日本国内で完結可能とするスキームの確立及び国内の研究機関による研究開発を加速化すると共に、AMED等によるBSL-4を用いた新興・再興感染症に対策に資する実装性の高い研究開発支援事業の創出にも貢献すると考えられる。特定一種病原体によるウイルス性出血熱に対する治療法の研究開発体制の継続的な強化が必要である。

F. 健康危険情報

特記事項無し

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし

2. 学会発表

The molecular basis of hemorrhagic fever virus-host interactions leading to aberrant host inflammatory response: a potential target for antiviral and therapeutics development, 海老原秀喜, 第20回あわじ感染と免疫国際フォーラム, 2022/09/07, 国際、口頭(招待)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特記事項なし

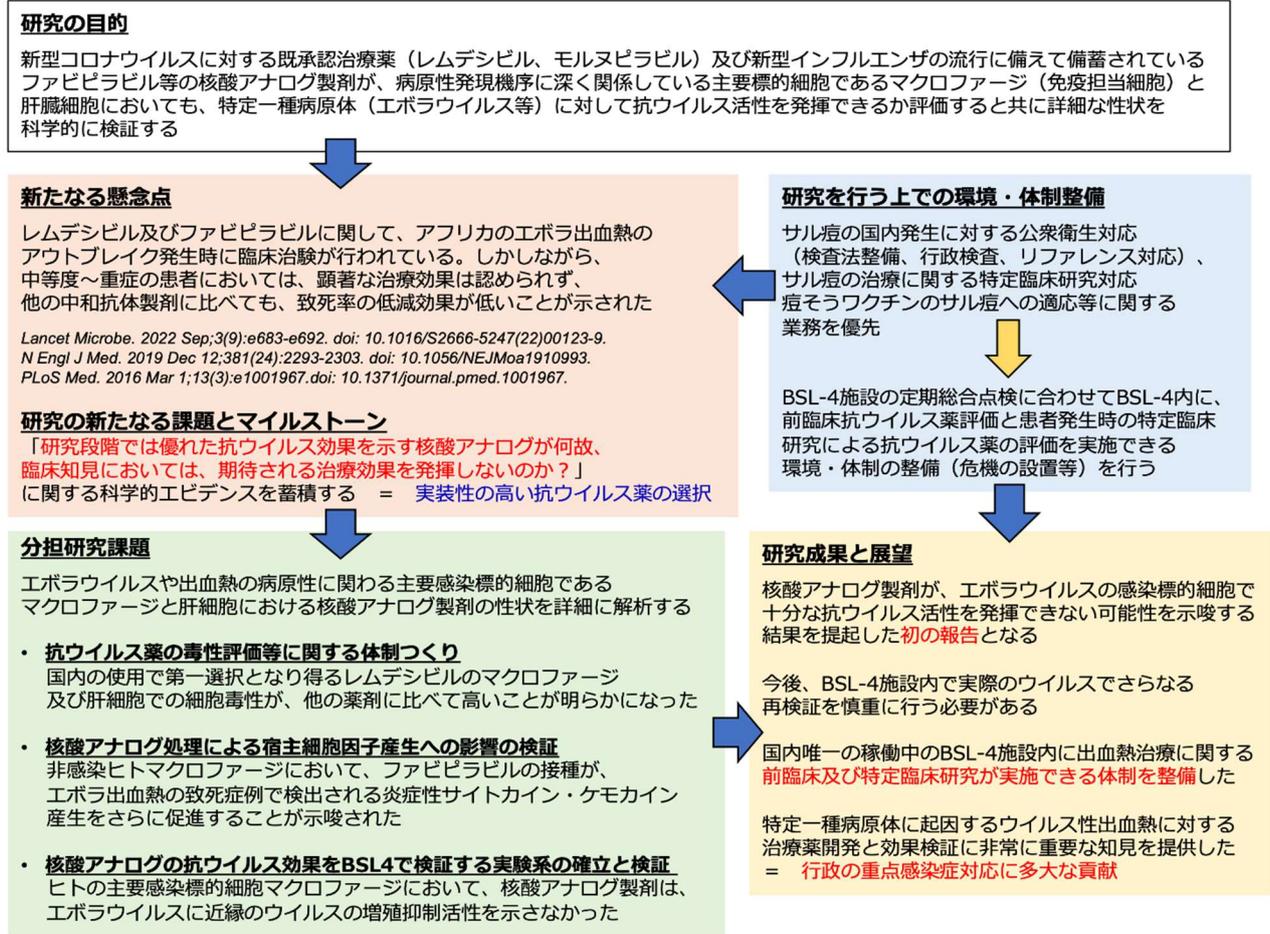
2. 実用新案登録

特記事項なし

3. その他

特記事項なし

図表



厚生労働行政推進調査事業費補助金
厚生労働科学特別研究事業

エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログ
の培養細胞における抗ウイルス効果の検証
(22CA2025)

Ⅱ. 分担研究報告

エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証
分担研究報告書

抗ウイルス薬の毒性評価等に関する体制づくり

研究分担者 下島昌幸
国立感染症研究所 ウイルス第一部 室長

研究要旨：

一類感染症の患者に対し国内で迅速に抗ウイルス薬治療を開始できるようにするため、候補薬剤の抗ウイルス効果を精密に測定できる体制づくりを行なった。

薬剤の細胞毒性の評価として細胞株（肝臓由来のものと同球由来のもの）を用いる系を構築し、候補薬剤である3種の核酸アナログ（レムデシビル、ファビピラビル、モルヌピラビル）について評価したところレムデシビルが高濃度（1-100 μ M）で細胞毒性を示した。末梢血単核球 PBMC を用いる細胞毒性評価系の構築も試みたが改良が必要であった。候補薬剤の炎症反応への効果も評価できるように、多数のサイトカインを同時に定量できる高性能機器および組織懸濁機器を BSL4 実験室内に設置した。更に、候補薬剤のウイルス蛋白質の細胞内挙動への影響を長期にわたり安定的に評価できるように、抗エボラウイルス NP 蛋白質単クローン抗体 3-3-D の可変領域の配列を決定した。

薬剤の細胞毒性（一部要改良）、炎症への影響の解析、ウイルス蛋白質の安定的検出が可能となり、一類感染症の患者への抗ウイルス薬治療へ向け一段階進んだと言える。

A. 研究目的

エボラウイルス病等の一類感染症の実験室診断は、国立感染症研究所に設置されている BSL4 実験室にてエボラウイルス等特定一種病原体を用いることにより大きな改善が施され、患者の輸入事例やバイオテロ発生時に検査できるよう整備されてきた。しかし一類感染症の治療薬として国内で承認された薬剤はなく、検査を行なって確定患者が見つかったとしても治療は迅速に行なうことができない。一方、エボラウイルス等の RNA ウイルスには共通の複製メカニズムがあり、新型コロナウイルス感染症で国内承認されているモルヌピラビル等の核酸アナログが一類感染症にも治療効果があることが期待される。

治療の候補薬剤を一類感染症の治療薬として承認するには、まずは国内で効果を検証し科学的エビデンスを蓄積していく必要がある。これまでそのような蓄積は行なわれてこなかったことから、本研究では候補薬剤（核酸アナログ）の抗ウイルス効果を精密に測定できる体制づくりを行なった。体制づくりとしては毒性の検証、高性能機器の設置、抗ウイルス抗体の整備を行なった。

B. 研究方法

候補薬剤

核酸アナログであり国内で感染症の治療薬剤として承認されているレムデシビル、ファビピラビル、モ

ルヌピラビルを DMSO に溶解し 0.1-100 μ M の濃度で用いた。

候補薬剤の細胞毒性評価

エボラウイルス等の特定一種病原体の主要感染標的である肝臓や単球系の細胞に対する毒性を評価するため、細胞株として肝由来 Huh-7 細胞、単球由来 THP-1 細胞、PMA による分化処理を行なった THP-1 細胞、末梢血単核球 PBMC（市販）を選んだ。これらの細胞を上述の薬剤及び薬剤濃度存在下で3日間培養後、細胞増殖測定試薬 WST-1 を添加し、適当な培養時間後に吸光度を測定した。薬剤濃度 0 μ M の場合の吸光度を 100 とし各薬剤濃度における吸光度を細胞生存率（%）として算出し毒性の指標とした。

高性能機器の設置

エボラウイルス等の特定一種病原体への薬剤効果の検証においては、病態を踏まえ炎症反応への影響も調べる必要がある。国立感染症研究所の BSL4 実験室には専用の機器が無かったため、実験室の定期点検時にウイルスを取り扱う GBL のパネルを取り外し、多数のサイトカインを同時に定量できる BioRad 社の Bioplex200 および動物の組織を懸濁処理できる Qiagen 社の Tissue LyserII を設置した。設置後は GBL のパネルを戻し気密検査を実施した。

抗ウイルス抗体の整備

候補薬剤の抗ウイルス効果の検証には、ウイルス蛋白質の量の変化や細胞内での局在も把握する必要が

ある。国立感染症研究所ウイルス第一部で作製された抗エボラウイルス NP 単クローン抗体がそのような把握に有用であるが、抗体の調整はハイブリドーマの継続的で厳重な管理に依存しており負担が大きい。将来の安定的な抗体供給の確保のため、ハイブリドーマの mRNA を用いて RT-PCR を行ない、抗体遺伝子の可変領域の増幅とその塩基配列の決定を行なった。塩基配列から可変領域のアミノ酸配列も決定した。

【倫理面への配慮】

該当なし

C. 研究結果

候補薬剤の細胞毒性

肝由来 Huh-7 細胞を用いた場合、モルヌピラビルおよびファビピラビルは 100 μ M でも細胞毒性は認められなかったが、レムデシビルは 0.1 μ M においても細胞活性を 80%以下に減弱させる毒性が認められた (図 1 a)。単球由来 THP-1 細胞を用いた場合、モルヌピラビル 100 μ M、レムデシビル 1 μ M 以上の濃度で細胞毒性が認められ、ファビピラビルは 100 μ M でも細胞毒性は認められなかった (図 1 b)。PMA 処理 THP-1 細胞を用いた場合、モルヌピラビルおよびファビピラビルは 100 μ M でも細胞毒性は認められなかったが、レムデシビルは 10 μ M 以上において細胞活性を 80%以下に減弱させる毒性が認められた (図 1 c)。PBMC を用いた場合、毒性を評価するのに十分な細胞活性の検出が行なえず、薬剤の毒性評価は行なえなかった。

高性能機器の設置

サイトカインを測定する Bioplex200、動物組織を懸濁する Tissue LyserII はいずれも適切に設置され正常な稼働を確認した。設置後に GBL のパネルを戻し気密試験を実施したところ合格し、GBL の性能も維持されていることを確認した。

抗ウイルス抗体の整備

エボラウイルス NP 蛋白質に対する単クローン抗体 3-3-D の可変領域の塩基及びアミノ酸配列を H 鎖、L 鎖にいずれについても決定することができた。

D. 考察

候補薬剤、評価に用いる細胞種によっては高濃度で細胞毒性が出ることが分かり、抗ウイルス効果の検証の際にはウイルスに対する効果か否か注意して判断する必要があることが判明した。今後、同様の手法で他の薬剤もその毒性を評価することができる。PBMC については細胞活性をより感度良く検出する方法を用いる等、改良が必要であることが判明した。

BSL4 実験室に新たな高性能機器が設置され、候補薬剤の抗ウイルス効果を精密に解析できるようになった。動物モデルでの抗ウイルス効果の検証でも活用されることが期待される。

抗エボラウイルス NP 蛋白質に対する単クローン抗体の配列を決定でき、ハイブリドーマの厳重管理という大きな負担が解消された。今後安定的な抗体供給と抗ウイルス効果の検証が強められた。

E. 結論

一類感染症の治療候補薬剤の抗ウイルス効果を精密に測定できる体制づくりが大きく進められた。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

図 1a : 肝由来 Huh-7 細胞を用いた細胞毒性評価

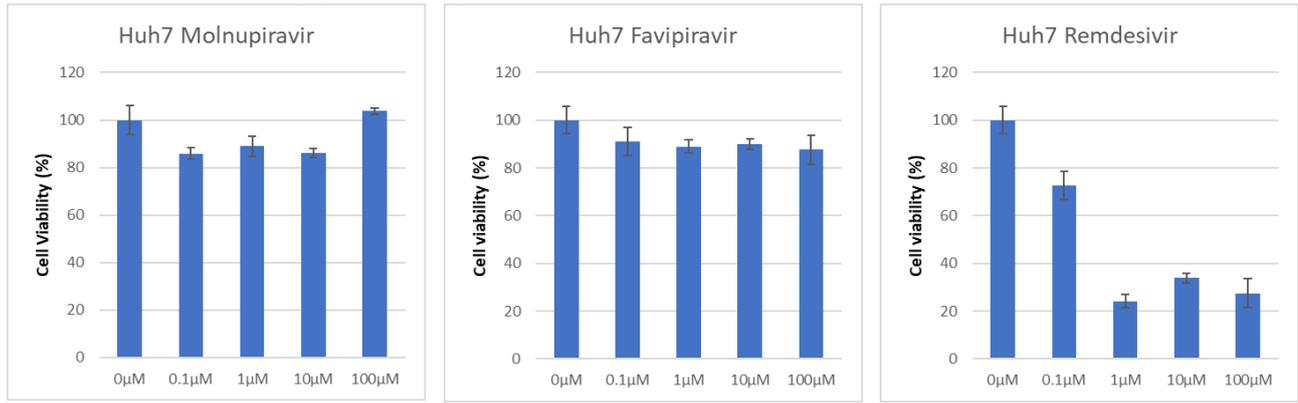


図 1b : 単球由来 THP-1 細胞を用いた細胞毒性評価

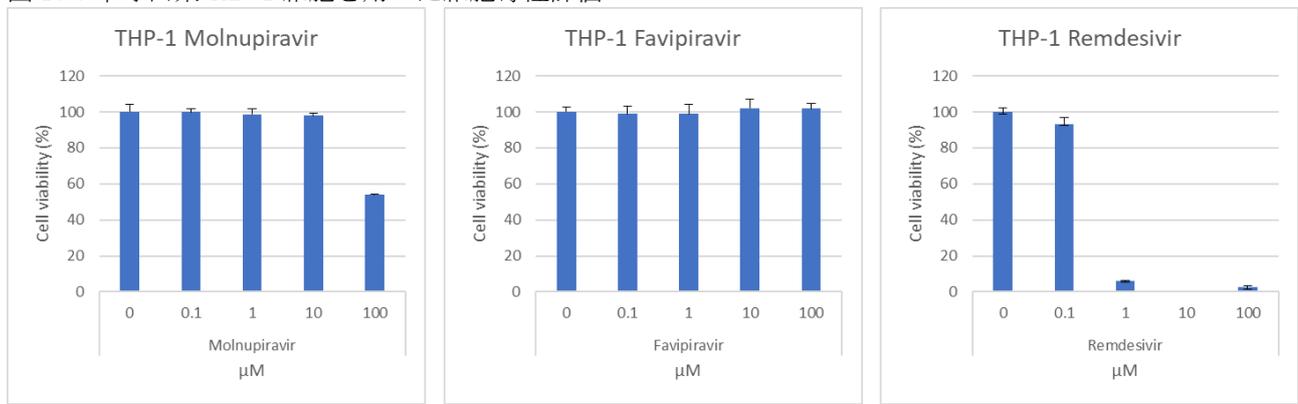
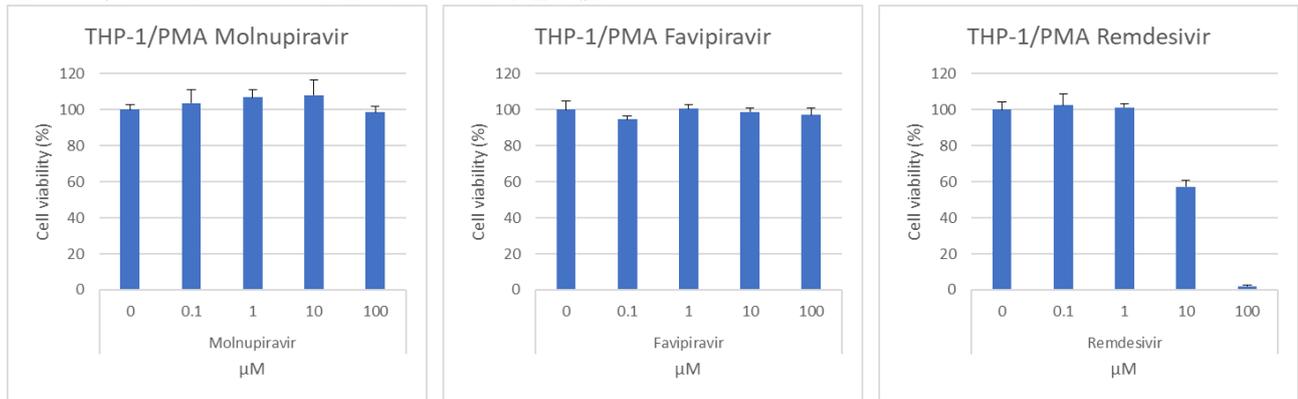


図 1c : 単球由来 THP-1 細胞を用いた細胞毒性評価



エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証
分担研究報告書

核酸アナログ処理による宿主細胞因子産生への影響の検証

研究分担者 黒須 剛
国立感染症研究所 ウイルス第一部 主任研究官

研究要旨：エボラウイルス等の出血熱を引き起こすウイルスは、免疫担当食細胞であるマクロファージに感染し、出血熱を重症化させるサイトカインストーム（過剰な全身性炎症性応答症候群）を引き起こすと考えられていることから、核酸アナログ製剤の抗ウイルス及び治療効果を検証するにあたり、細胞への核酸アナログが及ぼすサイトカイン産生即ち炎症性応答誘導への影響を把握する必要がある。そこで、レムデシビル等の核酸アナログが、既に活性化されたマクロファージにおいて炎症応答誘導にどのような影響を与えるかを解析するために、THP-1 細胞をリポポリサッカライド（LPS）処理を行うことにより、ウイルス感染による Toll 様受容体の刺激と活性化を再現した条件で、核酸アナログ処理による炎症性メディエーターの産生を測定した。この研究により、LPS によって炎症応答が誘導されたヒトマクロファージにおいては、Favipiravir の接種が特定の炎症性サイトカイン・ケモカイン産生をさらに促進することが明らかになった。特に幾つかのサイトカイン・ケモカインはエボラ出血熱患者において血中に検出されていることが報告されており、さらなる詳細な解析と検証が必要になると考えられた。

A. 研究目的

エボラウイルス等の出血熱を引き起こすウイルスは、免疫担当食細胞であるマクロファージに感染し、炎症性サイトカイン、ケモカインが無制御に産生され、出血熱を重症化させるサイトカインストームを引き起こすと考えられている。一方、出血熱の治療への使用が期待されるレムデシビル等の核酸アナログが、マクロファージの炎症性応答誘導能にどのような影響を与えるかの検証は行われていない。

そこで、当分担研究では、レムデシビル等の核酸アナログの投与が、ウイルス感染によって炎症性応答が誘導されたマクロファージ様細胞において、どのように炎症性メディエーターの産生に影響を与えるかを検証することを最終研究目的に設定し、まずは、LPS によって活性化したマクロファージ（非感染細胞系モデル）に対する核酸アナログ製剤の投与が、細胞の炎症性応答の誘導にどのように影響を与えるかの詳細な解析を実施した。この解析を行うことにより、抗ウイルス活性以外の面においても核酸アナログ製剤の治療効果の詳細な検証が可能となることを期待して研究を行った。

B. 研究方法

ヒト単球由来細胞である THP-1 をホルボール 12-ミリストート 13-アセタート（PMA: phorbol

myristate acetate）で処理し、以下の様にマクロファージ様細胞に分化させた（実験手順は、図 1 参照）。PMA 処理自体がサイトカイン産生へ影響する可能性を考慮し、処理濃度は 5 及び 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 2 種類とした。PMA による細胞処理翌日に増殖培地と交換し、さらに一日においてウイルス粒子（糖タンパク質）による Toll 様受容体 4 (Toll-like receptor 4: TLR4) を介した刺激を模した刺激としてリポポリサッカライド（LPS）処理を行い、炎症性活性化マクロファージ様 THP-1 細胞を準備した。LPS 処理刺激による宿主細胞（炎症性）応答に対して抗ウイルス薬（核酸アナログ）接種が、どのような影響を与えるかを評価するために、エボラウイルスに対する抗ウイルス薬候補として、臨床への使用が期待されている 2 種類の核酸アナログ：Favipiravir（2 種類の接種量 = 100 μM 、1 μM ）、Remdesivir（0.1 μM 、1nM）及び抗コロナウイルス薬である Molnupivir（10 μM 、0.1 μM ）の計 3 種類の薬剤を活性化 THP-1 細胞に同時に投与した。その際、それぞれの薬剤に処理に対するコントロールとして、それぞれ 3 グループ「PMA 処理後に LPS 処理のみ（LSP alone）」、「PMA 処理のみ（No LPS）」、「PMA 処理、LPS 処理なし（No treatment）」の処理をした細胞群をおいた。24 時間後に培養上清を回収し、上清中に産生されたサイトカイン・ケモカインなど 30 種類の宿主因子濃度を BioRad Bioplex

Reader 200 及び Bio-Plex マルチプレックスアッセイキットを用いて測定した。

【倫理面への配慮】

該当なし

C. 研究結果

レムデシビル等の核酸アナログが、既に活性化されたマクロファージにおいて炎症応答誘導にどのような影響を与えるかの検証の観点から、今後の出血熱ウイルスに対する抗ウイルス薬の研究開発において貢献する結果が得られた。

1. 最も重要な実験結果としては、Favipiravir の投与が、PMA 処理及び LPS 処理を行って活性化マクロファージ様細胞に分化・活性化させた THP-1 細胞において、G-CSF (図 2)、GM-CSF (図 3)、MIP-1 α (図 4)、MIP-1 β (図 5)、IL-1 β (図 6)、TNF- α (図 7)、IL-6 (図 8)、IL-12 (図 9) 等の炎症性サイトカイン・ケモカイン産生を上昇させることが示されたことである (下線太字の Favipiravir)。特に favipiravir 投与により産生が上昇した幾つかのサイトカイン・ケモカイン (MIP-1 α : 図 4, MIP-1 β : 図 5, TNF- α : 図 7, IL-6: 図 8 等) は、エボラ出血熱の重篤度と致死率に関与していることが報告されており、さらなる詳細な解析と検証が必要になると考えられた。
2. ほとんどのサイトカイン・ケモカインは PMA 処理だけでは産生増強されなかったが、MCP-1 (図 10)、MIP-1 α (図 4)、IL-8 (図 11) 産生が増強された。赤太字 (No LPS) をコントロールの黒太字 (No treatment と比較を行った)。
3. PMA 濃度 (5, 50ng/mL) による各種因子産生への影響は、MIP-1 α (図 4)、IL-8 (図 11) に関しては濃度が高い方が LPS 刺激なし (No LPS どちらの 50ng/mL と 5ng/mL で比較) での産生が上昇していた。それ以外では影響が認められなかった。
4. 核酸アナログ自体に、活性化したマクロファージの炎症性応答を抑制する活性は認められなかった (図 2 から 12)。

D. 考察

この研究により、LPS によって炎症応答が誘導されたヒトマクロファージにおいて、ファビピラルの投与が、複数の炎症性メディエーター、特にエボラ出血熱の重篤度と致死率に関与しているサイトカイン・ケモカイン [MIP-1 α (図 4)、MIP-1 β (図 5)、TNF- α (図 6)、IL-6 (図 8) 等] 産生をさらに促進することが明らかになった。このような核酸アナログによる宿主細胞の炎症性応答の活性化は検証されていないことから、核酸アナログによる炎症性

応答活性化の機序は、明らかになっておらず、さらなる詳細な解析と検証が必要になると考えられた。特に IL-1 β (図 6) や TNF- α (図 7) の産生が増強された一方、インターフェロン産生は影響を受けていない (図 11) ことから、Favipiravir は、Toll 様受容体のような自然免疫活性化経路の刺激とは別の経路で炎症性応答を活性化していることが示唆された。さらに分子機序の解析を進めることで、抗ウイルス活性を維持したまま、炎症性応答を活性化しない化合物の開発に貢献する可能性も期待できる。

実験手法に関しては、PMA 処理濃度は 5ng/mL でも 50ng/mL でもほとんどの因子の産生に影響しなかったが、MIP-1 α と IL-8 産生は影響を受けた。ウイルス感染実験の際には PMA 処理の影響を受けにくい低い濃度の 5ng/mL の方を用いて THP-1 細胞をマクロファージに分化させることが適切だと考えられた。

今回の研究では LPS 刺激を感染刺激の代わりとしたが、今後はウイルス感染時に薬剤処理が宿主因子産生にどのような影響があるかを確認する必要がある。抗ウイルス薬処理自体が、分化したヒトマクロファージにおいてサイトカイン・ケモカイン産生量に影響することが判明したことから、実際にウイルス感染系の実験を行うにあたり、陽性・陰性コントロールをしっかりと置き、実験の手法及び結果を慎重に判断する必要があると結論した。

E. 結論

本分担課題の実施により、核酸アナログによる抗ウイルス薬治療と宿主細胞応答に関して、新たなる知見が得られた。今後、抗ウイルス薬、特に臨床への使用が期待されている核酸アナログ製剤の宿主自然面応答と相互作用を含めた抗ウイルス活性以外の性状の詳細を解析することによって、出血熱に対する効果的で安全な抗ウイルス薬開発への貢献が期待できると考えられる。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

図1 実験手順

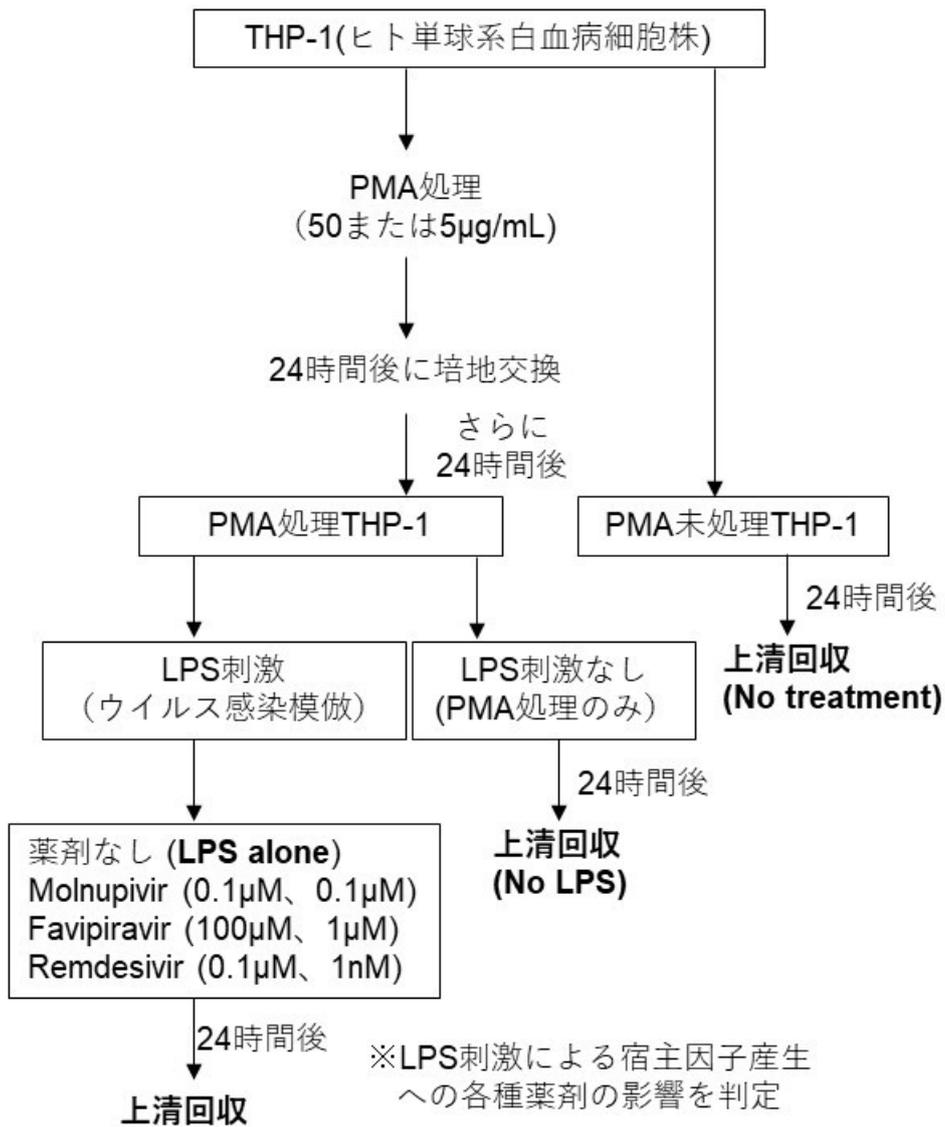


図2 G-CSF

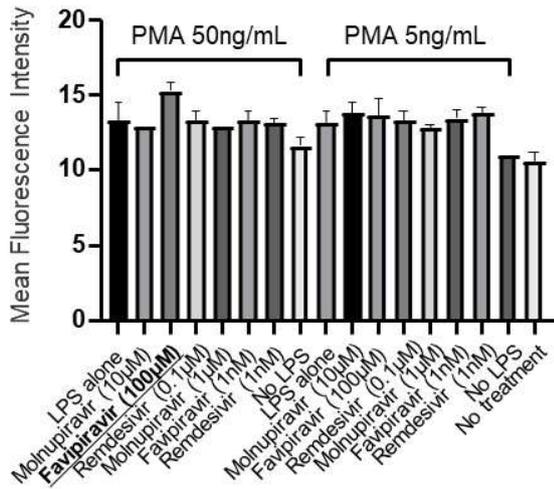


図3 GM-CSF

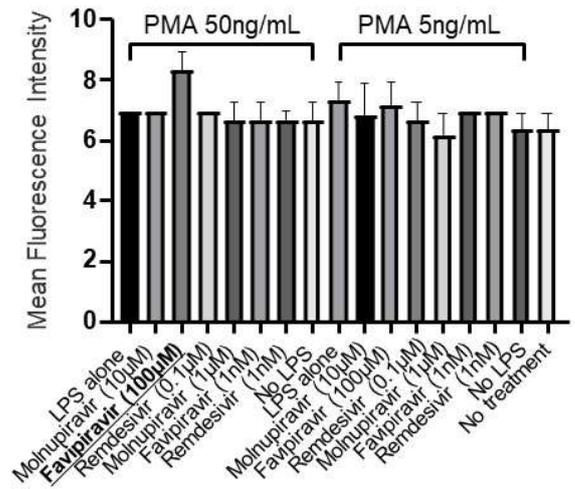


図4 MIP-1α

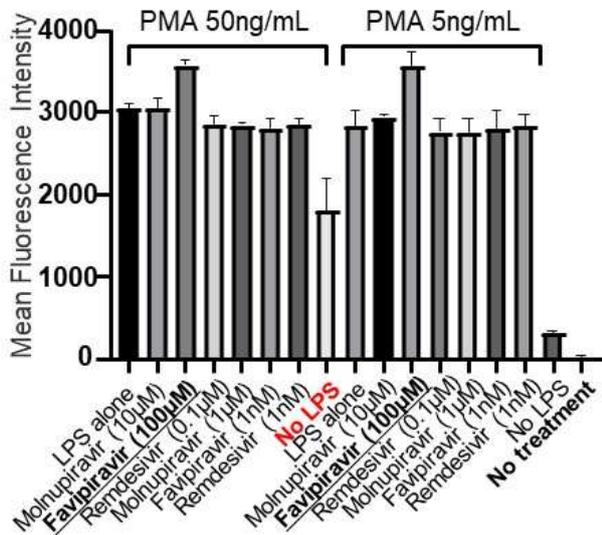


図5 MIP-1β

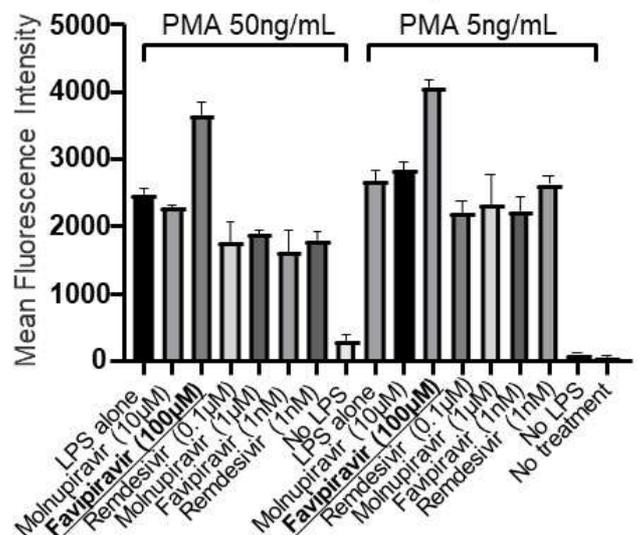


図6 IL-1β

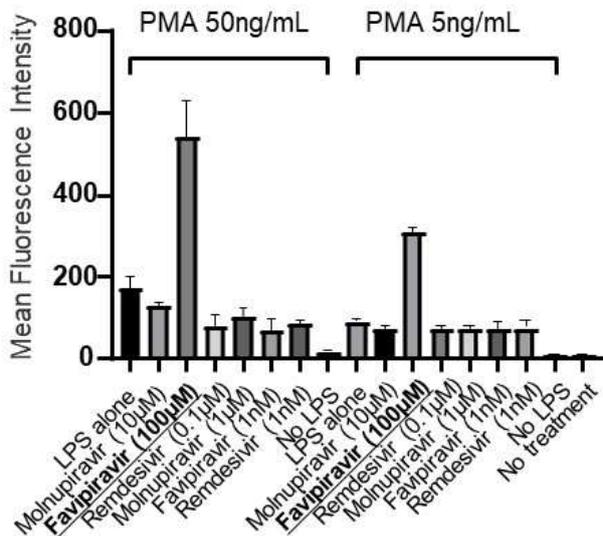
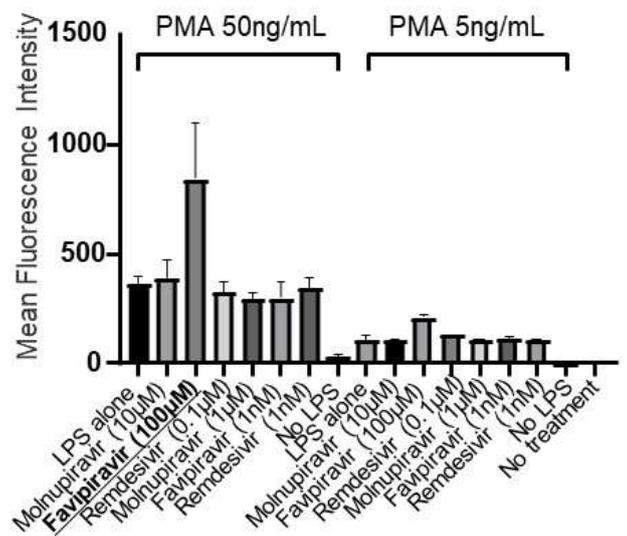
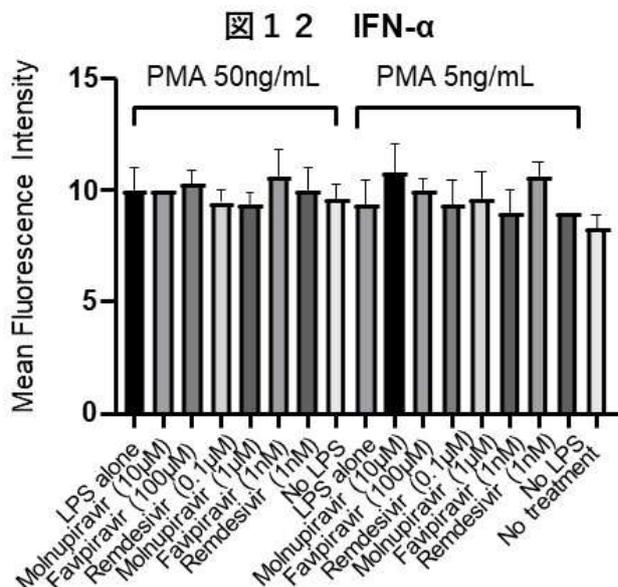
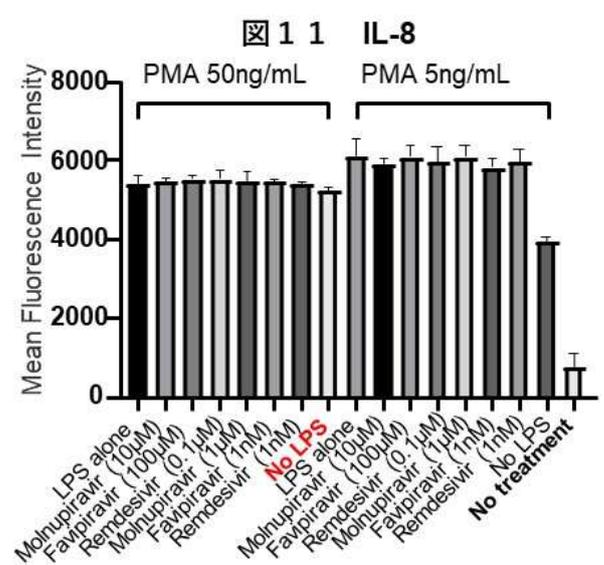
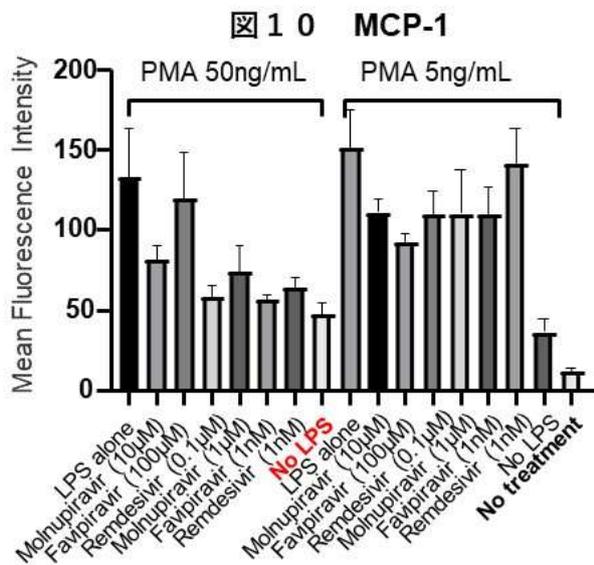
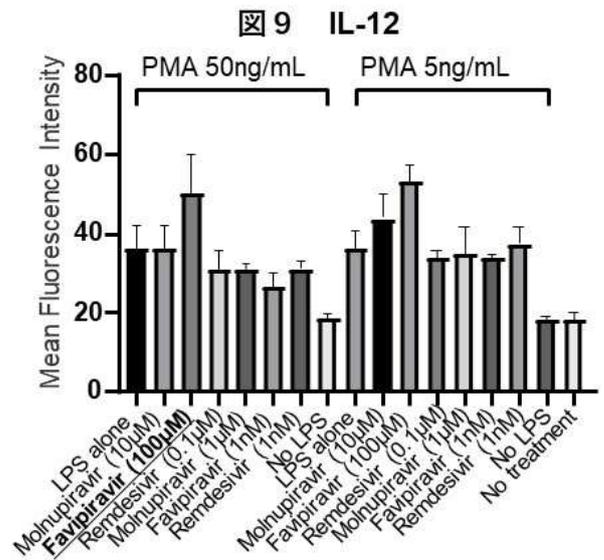
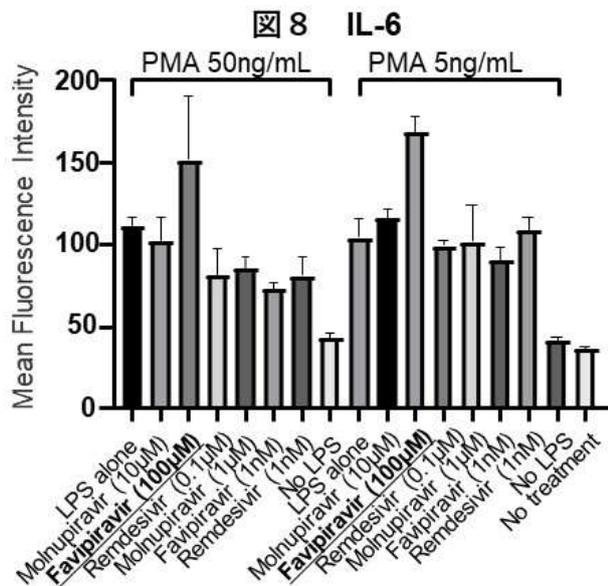


図7 TNF-α





エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証
分担研究報告書

核酸アナログの抗ウイルス効果をBSL4で検証する実験系の確立と検証

研究分担者 吉河智城
国立感染症研究所 ウイルス第一部 主任研究官

研究要旨：エボラウイルス等特定一種病原体は感染した場合の致命率が高く、故にその治療法の確立は必須である。治療には薬剤を用いるが、薬剤の選択は当然事前に得られる科学的知見に基づく。抗ウイルス薬の *in vitro* で評価するにあたり、有効濃度のレンジ、効果を検証するために適切な培養細胞の選択をBSL2レベルで検討、そして確定することは、作業負荷が高いBSL4で本試験を行う前に必須である。そこで本年度は、特定一種病原体に対する核酸アナログの有効性評価を行う系の確立と検証を、BSL2病原体を用いて行った。エボラウイルスのサロゲートとして使用可能なエボラGPでシュードタイプングした組換えVSV (rVSV-ZaireGP) を用いて、核酸アナログである、ファビピラビル、モルヌピラビル、レムデシビルの効果を検証した。検証に当たりフィロウイルスの主要な標的細胞である肝細胞、または単球/マクロファージ由来とされる2種類の全く性質の異なる細胞であるHuh-7とTHP-1を用いて評価を行った。その結果、本実験で使用した薬剤濃度では、Huh-7を用いて薬剤を評価したとき、ファビピラビルのみで顕著なウイルス産生量の抑制が確認された。驚くべきことにTHP-1を用いて評価した場合ファビピラビルを含む全ての薬剤でウイルス産生量の抑制は確認されなかった。このことは薬剤の有効性評価には複数の細胞種を用いることが重要であり、特に一種病原体に含まれるウイルスの第一標的である単球、マクロファージ由来の細胞を用いるべきであると考えられる。以上の結果より本研究で確立された核酸アナログによる抗ウイルス効果の検証法は、特定一種病原体を用いた際にも正確に薬剤を評価することが出来ると考えられる。

A. 研究目的

エボラウイルス等特定一種病原体は発症した際の致命率が高く、故にその治療法の確立は必須である。治療に際して薬剤の選択は当然事前に得られる科学的知見に基づく。そこで実際に特定一種病原体と動物や培養細胞を用いた *in vivo*、*in vitro* での薬剤評価が必須となり、まずは *in vitro* での検討を行うこととなる。また、抗ウイルス薬の評価にあたり、有効濃度のレンジ、適切な培養細胞の選択をBSL2レベルで検討、確立することは、作業負荷が高いBSL4で本試験を行う前には必須である。

そこで本年度はBSL4にて特定一種病原体に対する核酸アナログの効果を *in vitro* で評価する系の確立と検証を、BSL2病原体を用いて行った。具体的にはエボラウイルスのサロゲートとして使用可能な、エボラGPでシュードタイプングした組換えVSV (rVSV-ZaireGP) を用いて、核酸アナログである、

ファビピラビル、モルヌピラビル、レムデシビルの効果を検証した。更に薬剤効果の適切な評価には、複数種類の性質の異なる細胞を用いることが必須と判断し、フィロウイルスの主要な標的細胞である肝細胞由来とされるHuh-7、または単球/マクロファージ由来とされるTHP-1を用いて評価を行った。

B. 研究方法

ヒト肝細胞癌由来の上皮細胞様培養細胞株であるHuh-7とヒト急性単球性白血病由来の単球系細胞株であるTHP-1を用いた。それぞれ96ウェルプレートに 5×10^4 cells/wellで播種した。その際THP-1は50ng/mlになるようにホルボール12-ミリストート13-アセタート(PMA)を加えて単球由来マクロファージ様細胞に分化させた。

播種翌日にファビピラビル、モルヌピラビル、レムデシビルを4 μ M/wellから2倍の希釈系列になるよ

うに用意し、それらを 96 ウェルプレートに加えた。直後に rVSV-ZaireGP を MOI=0.01 になるように各ウェルに添加し細胞にウイルスを感染させた。

感染 2 日後に培養上清を回収し、各薬剤の添加濃度毎のウイルス産生量について VeroE6 細胞を用いたブランクアッセイにより定量した。

【倫理面への配慮】

該当なし

C. 研究結果

Huh-7 または THP-1 を使用した際の rVSV-ZaireGP の各種薬剤に対する感受性を図 1 に示す。Huh-7 を用いて薬剤を評価したとき、ファビピラビルのみで 1 μ M/well 辺りから顕著なウイルス産生量の抑制が確認された。一方でモルヌピラビル、レムデシビルについては今回の実験で用いた最高濃度である 4 μ M/well でもウイルス産生量の抑制は確認されなかった。

一方 THP-1 を用いた場合ファビピラビルを含む全ての薬剤で最高濃度である 4 μ M/well でもウイルス産生量の抑制は確認されなかった。

D. 考察

rVSV-ZaireGP はエボラウイルスの GP を用いて細胞への吸着、侵入を行うため野生型のエボラウイルスのそれを模していると考えられる。更に VSV はエボラウイルス同様に一本鎖のマイナス鎖 RNA ウイルス、所謂モノネガウイルスである為、ヌクレオシドアナログ系の抗ウイルス薬についてもエボラウイルスに近い評価が可能であると考えられる。

rVSV-ZaireGP とエボラウイルスの類似性を鑑みて今回の結果から、以下の事が考察される。まず、核酸アナログの有効性が想定していたよりも低い。今回の薬剤濃度域では Huh-7 を用いた際のファビピラビルしかウイルスの産生を抑制する効果が確認できなかった。これが *in vivo* での効果と全く同一にならない可能性はあるとしても、これら核酸アナログの単剤での有効性に疑問を持つには十分な結果となった。更に驚くべきことに、THP-1 を用いた場合にはウイルス産生の抑制効果を示した核酸アナログが存在しなかった。特にファビピラビルについては Huh-7 では有効な濃度域に於いて THP-1 では全く効果が確認されなかった。一般的に抗ウイルス薬の有効性を評価する場合には接着細胞を用いることが多い。この場合、当然実質細胞由来である事が多く、裏を返せば骨髄由来である免疫細胞等に対する評価が不十分となりが

ちである。しかし、エボラウイルス感染症を含めた一種病原体による感染症においてそれらのウイルスは免疫担当細胞、特に単球、マクロファージなどを第一標的として感染すること、かつこれらの感染症は免疫疾患の様相も示すことから、本実験で得られた結果は非常に示唆的である。2018 年にコンゴ民主共和国で行われたエボラ治療薬に関する WHO 主導の研究について、用いられた 4 種類の薬剤 (レムデシビルと、3 種類の性状の異なるモノクローナル抗体製剤、またはモノクローナル抗体カクテル製剤) のうち、特に効果の高かった 2 剤はどちらもモノクローナル抗体製剤でありレムデシビルは有効性に劣っていた。Preliminary でありながらも本実験で得られたレムデシビルに対する評価も臨床結果と齟齬はなく、本実験で確立された核酸アナログによる抗ウイルス効果の検証方法は、実際に特定一種病原体を用いることでより正確に薬剤を評価することが出来ると考えられる。

E. 結論

本研究ではBSL4で特定一種病原体に対する核酸アナログの評価を行う系を確立した。実際にrVSV-ZaireGPを用いて、核酸アナログである、ファビピラビル、モルヌピラビル、レムデシビルの効果をHuh-7とTHP-1という2種類の全く性質の異なる細胞用いて行ったところ、驚くべきことに細胞が異なると薬剤の効果が全く異なることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

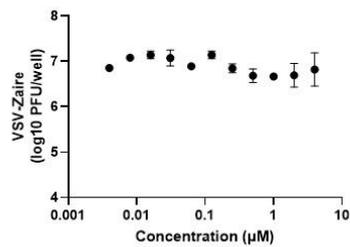
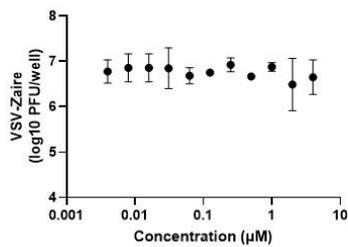
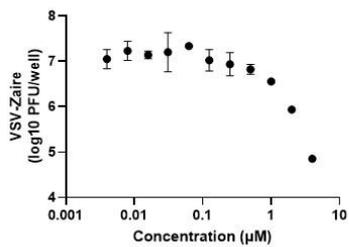
rVSV-ZaireGPの薬剤感受性

ファビピラビル

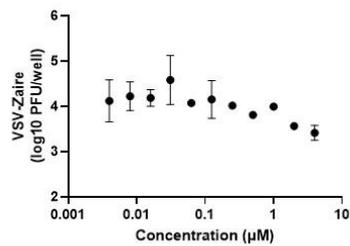
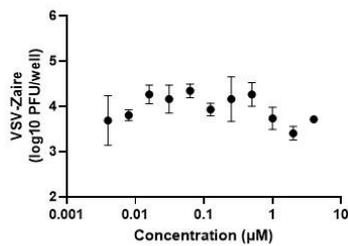
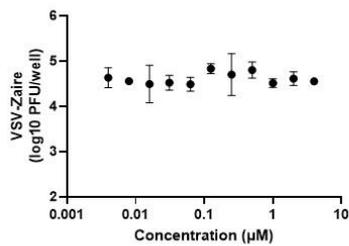
モルヌピラビル

レムデシビル

Huh-7



THP-1



別添5

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
該当なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
該当なし					

令和5年4月3日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 厚生労働科学特別研究事業
- 研究課題名 エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証
- 研究者名 (所属部署・職名) 国立感染症研究所 ウイルス第一部 部長
(氏名・フリガナ) 海老原 秀喜 (エビハラ ヒデキ)
- 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働科学特別研究事業

2. 研究課題名 エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証 (22CA2025)

3. 研究者名 (所属部署・職名) ウイルス第一部・室長
(氏名・フリガナ) 下島昌幸・シモジママサユキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 厚生労働科学特別研究事業
- 研究課題名 エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証
- 研究者名 (所属部署・職名) 国立感染症研究所 ウイルス第一部・主任研究官
(氏名・フリガナ) 黒須 剛・クロス タケシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 厚生労働科学特別研究事業
- 2. 研究課題名 エボラウイルス等特定一種病原体に対する核酸アナログの培養細胞における抗ウイルス効果の検証
- 3. 研究者名 (所属部署・職名) ウイルス第一部・主任研究官
(氏名・フリガナ) 吉河 智城・ヨシカワ トモキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。