

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業

新興・再興感染症等の感染症から
献血由来の血液製剤の安全性を
確保するための研究
(202KC1001)

令和4年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡田 義昭

(埼玉医科大学)

令和5(2023)年3月

目 次

I. 総括研究報告書

新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保
するための研究

研究代表者 岡田 義昭 P 1-P 6

II. 分担研究報告

1. 血液製剤の安全性を確保するための蚊媒介ウイルスの
ウイルス学的特性の解析

林 昌宏 P 7-P11

2. グロブリン製剤の原料血漿中に存在する新興・再興感染症ウイルスに
対する中和抗体に関する研究

浦山 健 P12-P21

3. 新型コロナウイルスの代理ウイルス感染系の確立と中和活性解析系への
応用

大隈 和 P22-P23

4. 新興・再興感染症の情報収集とリスクの評価、及びB型肝炎ウイルス等
培養が困難なウイルスの培養法の改良と不活化法の評価

岡田 義昭 P24-P27

5. 血漿分画製剤における実ウイルスを用いたウイルス除去・不活化
および安全性の評価に関する研究

野島 清子 P28-P34

6. 献血血液に影響する可能性のある人畜共通感染症等の情報収集と
リスク評価及びその検査法の開発

水上 拓郎 P35-P41

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

P42

厚生労働科学研究費補助金

(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

総括研究報告書

新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究

研究代表者 岡田義昭 (埼玉医科大学 医学部 客員准教授)

研究要旨

1. 蚊媒介性ウイルスのウイルス学的特性の解析のためにウツウイルスを2種導入し、次世代シーケンサー (NGS) により遺伝子の系統樹解析を行なった。
2. 国内採血の原料血漿プールから抗パルボウイルス B19V 抗体による中和活性を測定したところ B19V 抗原スクリーニング検査をすり抜けた B19V を十分に中和可能であった。また、新型コロナウイルスに対する抗体価の推移は、ワクチン接種人数や回数を非常によく反映していた。
3. HBV の *in vitro* 培養系を用いて感染性の評価法を改良したところ、精度良く評価ができた。その結果、アルブミン製剤の液状加熱では 3 Log 以上の不活化、200 単位の抗 HBs 抗体によって 2×10^4 の感染価を有する HBV が中和できた。
4. BSL2 での新型コロナウイルス感染等の解析のために水疱性口内炎ウイルスを用いた代理ウイルス系作成を目指し、変異株を含む新型コロナウイルスの S タンパク遺伝子をクローニングした。
5. M (サル) 痘ウイルスの検出系を整備して液状加熱に対する不活化効果を検討し、60 度 10 分間の加熱で検出感度以下にまで不活化されることを確認した。
6. 献血血液に影響する可能性のある人畜共通感染症等の情報収集とリスク評価及びその検査法の開発のために WHO、CDC、ECDC、国内の感染症発生状況、等から報告を集め精査した。M (サル) 痘に関しては、血中からウイルスが検出されることがあり、また、国内での散発的な感染例があることから検出試薬の標準品・参照品の整備等による精度管理の必要性を明らかにした。

分担研究者

林 昌宏 国立感染症研究所
室長

浦山 健 日本血液製剤機構
中央研究所 室長

大隈 和 関西医科大学
教授

野島 清子 国立感染症研究所
主任研究官

水上 拓郎 国立感染症研究所
部長

A. 研究目的

血液製剤は、検査法の進歩によって輸血後感染症は激減し、安全性は飛躍的に向上した。その一方で気候の温暖化や森林等の開発によって新興・再興感染症が生じ易い環境にある。本研究は新興・再興感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保することを目的に研究を実施した。特に新型コロナウイルスの国内外での流行によって献血血液の安全性確保が課題となっている。そのため新型コロナウイルスが混入した場合を想定して中和抗体や抗体以外の血漿成分による抗ウイルス活性等の有無を実験的に解析し、安全性の評価を行う。さらに原料血漿プールの新興・再興感染症の抗体価を経時的に測定することによって感染の流行予測等に役立てる。特にスパイクタンパクに対する抗体価や中和抗体価をモニターし、流行拡大の有無やワクチン接種の影響が解析できると期待している。また、デング熱やチクングニア熱等の流行地域において新型コロナウイルス対策が優先されたことによって蚊媒介の感染症（特にフラビウイルス属）や他の新興・再興感染症の対策が疎かになっていると推定される。経済活動の再開と共にこれらの感染症がパンデミックとなり、国内に持ち込まれる可能性が危惧され

る。また、Q熱など人畜共通感染症はこれまで血液を介する感染リスクについて検討されてこなかったが、最近のペットブームによって犬や猫との濃厚接触が生じていることからリスクを検討する必要があると考えられる。それに対応するためにWHOやCDC、各地域の感染症研究組織や論文等から新興・再興感染症等の情報を集め、リスクを評価し関係行政機関に情報提供を行い、特にリスクが高いと判断された感染症に対しては、血液から高感度に病原体遺伝子を検出できる方法を開発することも研究目的としている。さらにB型肝炎ウイルス等、適当な培養系が開発されていないために実ウイルスを用いた評価がされていないウイルスに対して培養法や感染性の評価法を改良し、輸血製剤や血漿分画製剤の安全性を向上させることも目指す。

B. 研究方法と結果

1) 血液製剤の安全性を確保するための蚊媒介性ウイルスのウイルス学的特性の解析

近年ヨーロッパではウスツウイルス(USUV)の流行が問題となっている。2009年にはイタリアで初めてUSUV感染による

免疫不全患者の髄膜脳炎症例が報告された。さらに2017年にはオーストリアにおける輸血血液中のWNV遺伝子に対するスクリーニング検査においてUSUV遺伝子が検出された。そこでヨーロッパウイルスアーカイブグローバル (EVA-g) よりUSUVの実験室診断法の確立及び性状解析のため、USUV 2株、UVE/USUV/1959/ZA/SAAR-1776 (SAAR-1776) 株および Usutu virus/Slovenia/Ko208/2018

(Ko208/2018) 株を導入した。本研究では、導入した2株の遺伝子解析を次世代シーケンサー (NGS) により解析し、系統樹解析を行なった。その結果 SAAR-1776 株はアフリカ2型、Ko208/2018 株はヨーロッパ2型の遺伝子型にそれぞれ分類されることが示された。またこれら2株の相同性は96.6%であった。

2) グロブリン製剤の原料血漿中に存在する新興・再興ウイルスに対する中和抗体に関する研究

献血由来の人免疫グロブリン製剤は数千人以上の国内献血者の血漿を混合した原料プール血漿より製造されるため、国内献血者集団の感染症既往歴およびワクチン接種歴を反映した抗体が含まれる。したがって、グロブリン製剤や原料プール血漿をモニタリングすることにより、国内献血者における各種病原体に対する血清疫学の概観を把握することができる。今年度はヒトパルボウイルス B19 (以下、B19) と SARS-CoV-2 に着目して、原料プール血漿中のこれらウイルスに対する抗体を評価した。B19については、原料プール

血漿中は中和抗体が存在し、その抗体価は FDA 勧告基準である $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ の B19 を中和するのに十分であることを明らかにできた。一方、SARS-CoV-2 については、2021 年度以降に採血された原料プール血漿中の結合抗体価と中和抗体価を測定したところ、抗体価が上昇後に一旦下降し、さらに再上昇するウェーブ様のトレンドが観察された。5類になり全数把握はできないが、献血者の抗体価の動向を経時的に測定することによってレトロスペクティブに流行状態を把握できる可能性や健常人の抗体保有率や変異株に対する抗体の防御効果なども評価できる可能性がある。

3) 新型コロナウイルスの代理ウイルス感染系の確立と中和活性解析系への応用

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染後の回復者やワクチン接種者の献血血液中には種々の抗ウイルス活性物質等が存在すると考えられるが、その安全性の評価は十分ではない。その評価には SARS-CoV-2 感染実験が必要であるが、本来 BSL3 レベルで行う必要があるため実施可能施設等の制限がある。そこで、BSL2 レベルで取り扱い可能な水疱性口内炎ウイルス (VSV) を用いた代理ウイルスを開発し、SARS-CoV-2 を用いたウイルス感染系との比較を行い、BSL2 レベルで実施可能な感染評価系構築を目指した。

SARS-CoV-2 は株によりスパイクタンパク質の性質が大きく異なるため、各変異株のスパイクタンパク質を有する代理ウイルスが必要となる。国立感染症研究所から分与された各種 SARS-CoV-2 (Wuhan 株, Alpha 株, Delta 株, Omicron BA.5.2.1 株) および臨床検体由来 Omicron BA.1.1.2 株 (2検体) から抽出したウイルス RNA を用いてスパイク遺伝子を増幅

し電気泳動した結果、いずれのウイルス RNA から予想された 3.8kbp 付近にバンドが検出された。

これを用いて BSL2 レベルでの取り扱いが可能な水疱性口内炎ウイルス (VSV) のエンベロープタンパク質 (G タンパク質) を SARS-CoV-2 スパイクタンパク質に置き換えた代理ウイルスを開発する予定である。

4) HBV培養法の開発と液状加熱による HBVの不活化や抗体による中和活性の評価

先行研究による HBV の感染性評価法の課題を HBs-RNA を用いることによって大幅に改善することができた。この評価法を用いてアルブミン製剤の液状加熱による HBV の不活化法の効果や抗体による中和活性を抗 HBs 人免疫グロブリン製剤を用いて、より正確に評価できるようになった。これまで HBs-DNA の定量を用いて感染性を評価していたが、非特異的に細胞に吸着する HBV 等の影響で微量な感染性を評価できなかった。そこで感染がよって転写される HBs-RNA に注目し、感染細胞から RNA を抽出し、定量性 RT-PCR を行ったところバックグラウンドが大幅に減少した。また、HBs-RNA は感染後 2 週間後にピークになることも発見し、感染 2 週間後の 1 点のみの評価で良いことも判明した。その結果、液状加熱により 3 Log 以上 HBV が不活化されること、200 単位の抗 HBs ヒト免疫グロブリン製剤によって少なくとも 2×10^4 の感染価を持つ HBV が中和できることを明らかにできた。

5) 血漿分画製剤における実ウイルスを用いたウイルス除去・不活化および安全性の評価の評価に関する研究

2022 年に M (サル) 痘感染者が欧州で急増し、血液中からウイルスが検出されたことに加えて我が国でも感染例が報告されたことから検出法の整備と液状加熱に対する感受性を検討した。日本で分離

された (MPXV_JPN2022_YK006) 株とモデルウイルスであるワクシニアウイルス (LC16m8) を入手し、プラーク法による検出法を立ち上げた。この系を用いて PBS やアルブミン製剤にこれらのウイルスを添加し、60 度で 10、30、60 分加熱してそれぞれの感染価を測定したところ、液状加熱に対して非常に感受性が高く、60 度 10 分の加熱で検出限界以下にまで不活化できた。また、同じ属のワクシニアウイルスも検討したが差は認められなかった。

6) 献血血液に影響する可能性のある人畜共通感染症等の情報収集とリスク評価及びその検査法の開発

WHO や CDC、各地域の感染症研究組織等や論文等から新興・再興感染症等の情報を集め、リスクを評価し、関係行政機関に情報提供を行うと共にリスクが高い感染症に対しては、市販されている検査法の評価を行うとともに、必要に応じ、血液から高感度に病原体遺伝子を検出できる方法を開発することを目的とした。今年度は国内・国外で発生している感染症に関し、ProMED Mail 等の情報に基づき、WHO のサイト、CDC、ECDC、各保健機関のサイトを適宜確認し、また論文報告されているものに関しては、内容を精査した。また国内感染症発生動向も注視し、国内で発生している感染症についても検討した。その結果、2022 年度は SARS-CoV-2 の感染拡大 (第 7 波・第 8 波) の中で、様々な新興・再興感染症のアウトブレイクが確認された。中でも 2022 年 7 月 25 日に WHO が緊急事態 (PHEIC) に該当すると宣言したサル痘に関しては、体制整備が完全ではない可能性がある。そこで、今後はサル痘に絞り、標準品・参照品を

用いて国内で市販されている核酸検査法の評価を行い、必要に応じ、献血血液での検査法を確立すべきであると考えられた。

D. 考察

気候変動や森林開発等で新興・再興が発生しやすくなっている。さらにヒトや物の移動によって驚くほどのスピードで世界に拡散している。これらから血液製剤の安全性確保するためには、常に海外や国内の感染症情報を集め・リスク評価を行うことが必要である。今年度、2波に渡る新型コロナウイルスの流行が生じた中に欧州でのM(サル)痘のアウトブレイクが発生した。幸い流行は収まっているが我が国では、いまだ散発的な感染例が報告されている。M痘は、ウイルス血症が認められることがあり、混入した場合のリスクを今後評価する必要があると考えている。今年度の成果として原料血漿の新型コロナウイルスの抗体価や中和活性を経時的に調べるとワクチン接種人数や回数が良く反映していることが明らかとなった。1回目の接種によって生じた抗体価が経時的に低下し、追加接種によって再度増加したことまで原料血漿プールに反映していた。5類になることで全数把握はできなくなるが、原料血漿をモニターすることでレトロスペクティブに流行状況や抗体保有状況の把握に有用と考えられた。また、HBVの感染性評価の改良によってこれまでHBs抗原と抗体の結合でしか評価で

きなかった中和活性が測定可能になった。過去にチンパンジーを用いた報告があるが詳細な解析は不可能であった。今後、異なる遺伝子型のHBVに対する中和活性の相違などの解析が待たれる。これらはより安全な血漿分画製剤の製造に貢献すると考えられた。

E. 結論

新興・再興感染症等の感染症から献血血液の安全性確保と安定供給を目指し、蚊媒介ウイルス、新型コロナウイルス解析のための代理ウイルスの開発、献血由来血漿中抗体の解析、HBVのin vitro感染系の改良、M痘の不活化評価、人畜共通感染症の情報を含めた新興・再興感染症等の情報収集と評価を行った。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

- 1) 山麻衣子、玉栄建次、加藤由佳、鈴木雅之、内野富美子、山田攻、小原祥、天野博明、小林清子、岡田浩一、岡田義昭: カラム凝集法で検出感度以下であった不規則抗体による遅発性溶血性副反応の一例、第70回日本輸血・細胞治療学会総会、名古屋、2022.
- 2) 岡田義昭、小林清子、野島清子: B型肝炎ウイルスのin vitro培養系を用いた血液製剤の不活化効果の評価と抗HBs免疫グロブリンの中和活性の測定 第70回日本輸血・細胞治療学会総会、名古屋、2022.
- 3) 岡田義昭、渡士幸一、野島清子: In vitro感染系とB型肝炎ウイルス陽性血漿を用いた血漿分画製剤における液状加熱

による不活化と抗HBs免疫グロブリン製
剤による中和活性の評価 第69回日本ウ
イルス学会学術総会、長崎、2022.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

血液製剤の安全性を確保するための蚊媒介性ウイルスのウイルス学的特性の解析

分担研究者 林 昌宏（国立感染症研究所ウイルス第一部第二室室長）
協力研究者 西山祥子（国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官）
田島 茂（国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官）
海老原秀喜（国立感染症研究所ウイルス第一部部長）

研究要旨 近年ヨーロッパではウツウイルス（USUV）の流行が問題となっている。2009年にはイタリアで初めて USUV 感染による免疫不全患者の髄膜脳炎症例が報告された。さらに 2017年にはオーストリアにおける輸血血液中の WNV 遺伝子に対するスクリーニング検査において USUV 遺伝子が検出された。そこでヨーロッパウイルスアーカイブグローバル（EVA-g）より USUV の実験室診断法の確立及び性状解析のため、USUV 2 株、UVE/USUV/1959/ZA/SAAR-1776 (SAAR-1776) 株および Usutu virus/Slovenia/Ko208/2018 (Ko208/2018) 株を導入した。本研究では、導入した 2 株の遺伝子解析を次世代シーケンサー（NGS）により解析し、系統樹解析を行なった。その結果 SAAR-1776 株はアフリカ 2 型、Ko208/2018 株はヨーロッパ 2 型の遺伝子型にそれぞれ分類されることが示された。またこれら 2 株の相同性は 96.6%であった。

A. 研究目的

近年の交通網の発達と人的・物的交流の活性化により節足動物媒介性ウイルス（アルボウイルス）感染症の流行域が急速に拡大し、新興・再興感染症として世界的規模で問題となっている。特に近年ヨーロッパではウツウイルス（USUV）の流行が認められる。USUV はフラビウイルスウイルス科に分類される一本差（+）RNA ウィルスである。USUV は 1959 年に南アフリカでイエカ属の蚊（*Culex neavei*）より初めて分離され、ヨーロッパでは鳥類の血清学的サンプルに対する回顧的調査により遅くとも 1996 年には USUV が存在したことが示されている。これまでのところ USUV の

ヒトに対する病原性は高くないが、ヨーロッパでは 2009 年にイタリアで初めて USUV 感染による免疫不全患者の髄膜脳炎症例が報告された。また 2009 年にはイタリアで肝移植を受けた女性の血液からも USUV が分離された。さらにドイツ、イタリアおよびオーストリアにおいては、献血血に対するウエストナイルウイルス（WNV）の NAT 検査において、USUV 遺伝子が検出されている。したがって、USUV による輸血感染症が問題となっている。

これまでに我々はフラビウイルス間で比較的共通した塩基配列の認められる NS5 領域に PCR プライマーを設計し、フラビウイルス遺伝子の増幅を検討した。そして蚊

によって媒介されるデングウイルス (DENV), ジカウイルス (ZV), WNV, ダニによって媒介されるロシア春夏脳炎ウイルス (TBE) を検出することが可能なフラビウイルス共通プライマーを作製した. またこれまでに我々はヨーロッパウイルスアーカイブグローバル (EVA-g) より導入した USUV 2 株 UVE/USUV/1959/ZA/SAAR-1776 (SAAR-1776)株および Usutu virus/Slovenia/Ko208/2018 (Ko208/2018) 株を用いて USUV に対するフラビウイルス共通プライマーの反応性を確認した. ところで, SAAR-1776 株は 1959 年に南アフリカで *Culex neavei* より分離されたウイルス株でありフランスから導入した. Ko208/2018 株は 2018 年にスロベニアで蚊より分離された近年のヨーロッパ流行株であり, スロベニアから導入した. SAAR-1776 株 (GenBank Accession no. AY453412) についてはすでにその塩基配列が報告されているが, Ko208/2018 株については未だその報告がない. そこでわれわれは SAAR-1776 株および Ko208/2018 株について次世代シーケンサー (NGS) 解析を実施し, その塩基配列を決定した.

B. 研究方法

ウイルス

サル腎細胞由来 Vero 細胞を $2 \times 10^5/\text{ml}$ に播種し, 5%CO₂, 37°C で培養した. 翌日, EVA-g より導入した SAAR-1776 株および Ko208/2018 株をそれぞれ 50 μl 接種した. 細胞を顕微鏡下で観察し, 細胞変性効果の認められた培養上清を回収し, -80°C の超低温下で保存した.

ウイルス RNA の抽出と精製

ウイルス RNA の抽出と精製は, Hight

pure viral RNA kit (Roche 社) を使用した. i) 200 μL の検体を 1.5ml マイクロチューブに入れ, Working solution 400 μL を加え, ピペティングでよく混和した. ii) フィルターチューブと回収チューブを連結させ, 反応液 600 μL を注いだ. iii) 10,000 回転, 15 秒間遠心した. iv) 上液を捨て, 新しい回収チューブを連結させ, 500 μL の Inhibitor removal buffer を加え, 8,000 回転, 1 分間遠心し, 上液を捨て, 新しい回収チューブを連結させ, DNase 処理を行った. v) 450 μL の Wash buffer を加え, 8,000 回転, 1 分間遠心した. vi) 上液を捨て, 新しい回収チューブを連結させ, 再度, 450 μL の Wash buffer を加え, 8,000 回転, 1 分間遠心した. vii) 回収チューブを外し, 空のチューブを連結し, 12,000 回転, 10 秒遠心した. viii) 回収チューブを捨て, 新しい 1.5 mL チューブにフィルターチューブを連結させ, 50 μL の Elution buffer を加え, 10,000 回転, 1 分間遠心した. ix) 得られた精製 RNA はすぐに使用しない場合は -80°C で保管した.

NGS 解析のためのサンプル調整と NGS 解析

NGS 解析のためのサンプル調整は, NEB Next Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs 社) を用いて, 取扱説明書に沿って実施した. NGS 解析は iSeq 100 システム (Illumina 社) を用いて行なった.

シーケンス解析

得られた NGS データにおけるウイルス遺伝子配列の構築には, CLC Genomics Workbench (QIAGEN 社) を用いた. 得られたウイルス配列の系統樹解析は, MEGA X (<http://megasoftware.net>) を用いて行な

った。

C. 研究結果

ウスツウウイルスの培養

Vero 細胞を播種し一晩静置後，USUV UVE/USUV/1959/ZA/SAAR-1776 株および Usutu virus/Slovenia/Ko208/2018 株をそれぞれ 50 μ l 接種した。細胞を鏡検下で毎日観察し，接種 4 日後に細胞変性効果が観察された。培養上清を接種後 4 日後に回収し， -80°C の超低温下に保存した。

次世代シーケンサーによるウスツウウイルス遺伝子の配列解析

次に SAAR-1776 株および Ko208/2018 株の NGS 解析を行なった。その結果 2 株それぞれの塩基配列は 5'-および 3'-末端 UTR 領域の 10 塩基を除き決定された。SAAR-1776 株はこれまでに報告されている塩基配列 (AY453412) との比較において数塩基の変異が認められた。また系統樹解析の結果 SAAR-1776 株の遺伝子型は，アフリカ 2 型であることが示された。さらに，スロベニアで分離された Ko208/2018 株はヨーロッパ 2 型の遺伝子型に分類されることが示された。SAAR-1776 株および Ko208/2018 株の同一性は 96.6%であった。

D. 考察

血液製剤の安全性を確保するうえで近年問題となっているフラビウイルスには WNV, USUV, ZV等がある。特にUSUVは，2017年にオーストリアにおける輸血血液に対するWNV遺伝子に対するスクリーニング検査において12,047検体中6検体からその遺伝子が検出されており，問題となっている。さらに欧州ではUSUV感染症が

鳥類において流行しており，これまでに24のヨーロッパ諸国で遺伝子学的あるいは血清学的にその存在が示された。2001年にはオーストリアで数百羽のユーラシアクロウタドリ (*Turdus merula*) の大量死が確認されている。また2005年にはハンガリーで，2006年にはスイス，そして2009年にはイタリアで，USUV感染症の流行が鳥類において発生している。またドイツでは，2010年に蚊のプール (*Culex pipiens pipiens*) からUSUVが分離され，さらに2011年には，鳥類（特にユーラシアクロウタドリ）の大量死が報告されている。クロウタドリはわが国にも飛来する渡り鳥であり，わが国においてもUSUVの侵淫に備える必要性は否定できない。

本研究ではEVE-gより導入した2株のUSUVに対するNGS遺伝子解析を実施した。SAAR-1776株は，1959年に南アフリカで *Culex neavei* より分離されたUSUVのレファレンス株であるが，われわれの解析においてもその配列が比較的良く保存されていることが確認された。またスロベニアで分離されたKo208/2018株は，現在ヨーロッパで流行している遺伝子型ヨーロッパ2型に分類されることが明らかとなった。両ウイルスの同一性は96.6%であり，これらの塩基配列の差と病原性の関係について今後の調査の必要性が示唆された。

E. 結論

血液製剤の安全性を確保するためのドナースクリーニングにおいてUSUVが検出されており，USUVの分布する地域においては，USUVは重要なウイルスの1つである。USUVにはいくつかの遺伝子型が存在し，ヨーロッパ型のUSUVは温暖地域であるヨ

ヨーロッパの鳥類において広く流行していることから、今後もUSUVの動向にも注視するとともに、その性状解析を進める必要がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

特記事項なし

学会発表

特記事項なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

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

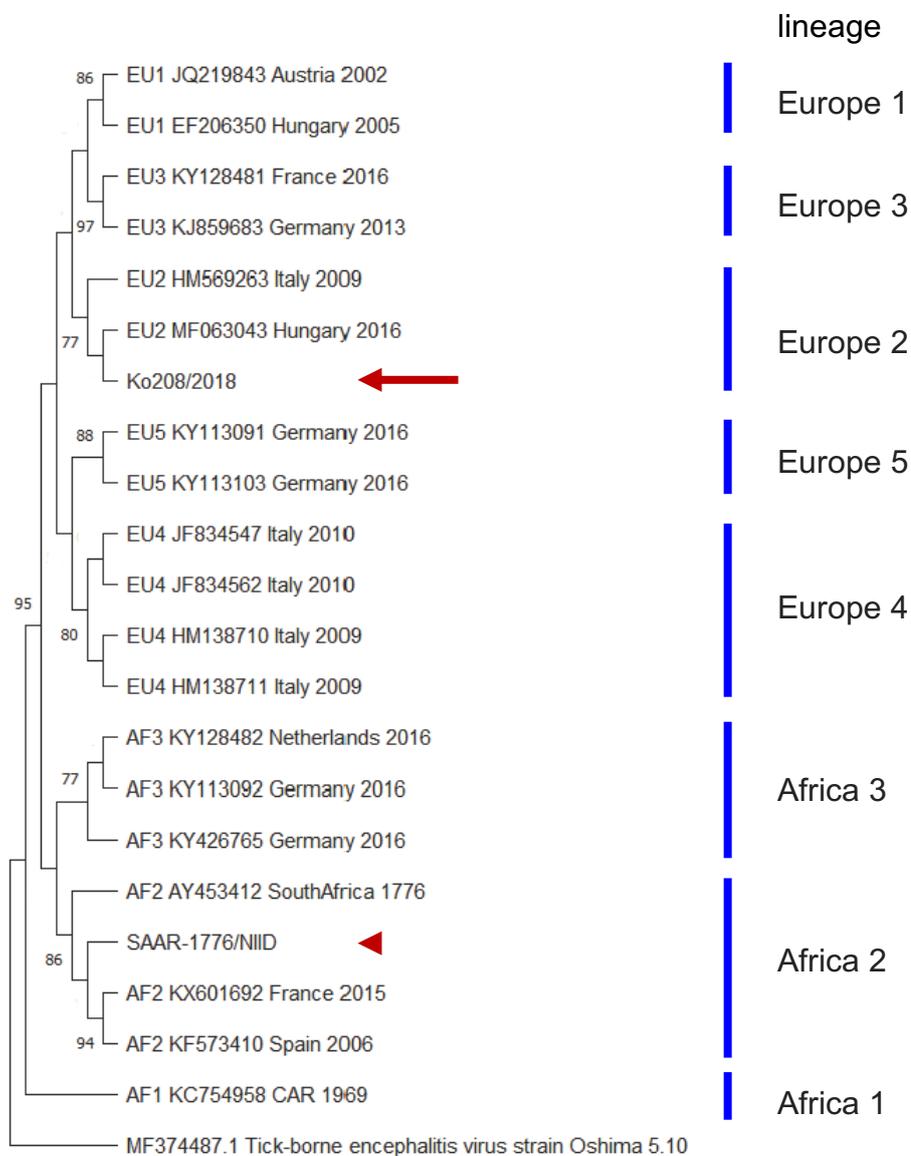


図. ウスツウイルス (USUV) の系統樹解析.

非構造蛋白質 5 (NS5) 遺伝子の一部配列に基づく USUV の系統樹を、近傍結合法を用いて構築した。最大合成尤度法を用い、サイト間の率は均一とした。ブートストラップ値は 500 個の複製で計算し、類似度 > 75% を系統群の基準として使用した。本研究で解析した SAAR-1776 株を矢頭で、そして Ko208/2018 株を矢印でそれぞれ示した。その結果 SAAR-1776 株はアフリカ 2 型、Ko208/2018 株はヨーロッパ 2 型の遺伝子型にそれぞれ分類されることが示された。外群にはダニ媒介脳炎ウイルス Oshima 株を用いた。

厚生労働科学研究補助費（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業）

分担研究報告書

分担する研究項目：『グロブリン製剤の原料血漿中の新興・再興ウイルスに対する中和抗体に関する研究』

研究分担者 浦山健（一般社団法人日本血液製剤機構 研究開発本部 中央研究所 感染性病原体研究室）

研究協力者 塩田達雄（大阪大学微生物病研究所）

研究協力者 柚木幹弘（一般社団法人日本血液製剤機構 研究開発本部 研究開発推進部）

井上隆昌、西口優吾、澁谷明美（一般社団法人日本血液製剤機構 研究開発本部 中央研究所 感染性病原体研究室）

研究協力者 デンカ株式会社

[研究要旨]

本邦献血由来人免疫グロブリン製剤は数千人以上の国内献血者の血漿を混合した原料プール血漿より製造されるため、国内献血者集団の感染症既往歴およびワクチン接種歴を反映した抗体が含まれる。したがって、グロブリン製剤と原料プール血漿をモニタリングすることにより、国内献血者における各種病原体に対する血清疫学の概観を把握することができる。また、抗体の一部は病原体等と結合して感染を阻害（中和）するため、原料プール血漿の安全性に関する考察が可能である。

本分担研究では輸血による感染が報告されているヒトパルボウイルス B19（以下、B19）と近年の世界的パンデミックを引き起こした SARS-CoV-2 に着目して、原料プール血漿中のこれらウイルスに対する抗体を評価した。B19 については、原料プール血漿中は中和抗体が存在し、その抗体価は FDA 勧告基準である $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ の B19 を中和するのに十分であった。一方、SARS-CoV-2 については、2021 年度以降に採血された原料プール血漿中の結合抗体価と中和抗体価を測定したところ、抗体価が上昇後に一旦下降し、さらに再上昇するウェーブ様のトレンドが観察された。

SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

TCID₅₀: 50% Tissue Culture Infectious Dose

qPCR: quantitative PCR

B19: Human parvovirus B19

EIA: Enzyme Immuno Assay

A. 研究目的

数千人以上の国内献血者の血漿をプールして製造される原料プール血漿中ならびに分画産物である本邦献血由来人免疫グロブリン製剤中には、献血者の感染症既往歴やワクチン接種歴を反映する多様な抗体が含まれる。これらの抗体の中には病原体の抗原と結合することで、病原体の感染を阻害する中和抗体が存在する。国内献血由来の原料プール血漿なら

びにグロブリン製剤中の中和抗体について評価することにより、原料プール血漿の安全性に関する考察が可能となる。血清学・核酸の各種検査により病原体の混入した献血血液は排除されているが、検出限界値未満で存在する病原体、あるいは検査の対象となっていない病原体が原料プール血漿中に混入する可能性は否定できない。これらの病原体に対する中和抗体価を解析することで、原料プール血漿中で病原体が感染性を維持しているかどうかの観点から安全性を考察できる。また、国内献血者における各種病原体に対する血清疫学の概観についても把握できる。2019 年末に中国武漢市で発生した新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、その後世界的なパンデミックを引き起こし、3 年以上経過した 2023 年 3 月現在でも完全には収束していない。このように、パンデミックが発生すると、病原体によっては、その影響が数年にわたって続く可能性がある。この期間中に、対象病原体に対する中和抗体をモニタリングすることで、献血者集団を代表とする疫学的な情報を取得することも可能である。

本分担研究では、原料プール血漿中の B19 と SARS-CoV-2 に対する結合・中和抗体について評価した。

B19 は、小児の伝染性紅斑の原因ウイルスである。一方、成人に対しては、関節炎症、妊婦胎児水腫、重篤な溶血性貧血等を引き起こすことがある¹⁾。輸血による感染も報告されていることから²⁾、血液製剤の安全性確保の観点から注視を必要とするウイルスである。FDA は、界面活性剤処理された血漿の投与によって感染が生じなかったウイルス量をもとに³⁾、4 Log₁₀ IU/mL を原料プール血漿に対する最大許容値として定めている⁴⁾。日本赤十字社では、2019 年 4 月から化学発光免疫測定法による抗原検

査を全献血血液に対し導入しており、この検査により抗原陽性血液を排除することで、原料プール血漿が FDA 勧告基準を満たすとの考えを示している⁵⁾。また、一般社団法人 日本血液製剤機構でも原料プール血漿が FDA 勧告基準を満たすことを核酸検査により確認している⁶⁾。本年度は、*In Vitro* ウイルス中和実験により、原料プール血漿中の B19 に対する中和抗体価を評価し、4 Log₁₀ IU/mL の B19 が存在した場合に、B19 が実質的に感染性を消失しているかどうか考察した。

SARS-CoV-2 については、米国では 2020 年の 9 月に製造されたグロブリン製剤から、SARS-CoV-2 に対する抗体が含まれ始めた⁷⁾。米国における採血から製剤化までのリードタイムは約半年であることを考慮すると、2020 年 3 月頃に SARS-CoV-2 既感染者から採血されていたと推測できる⁷⁾。日本と米国では、SARS-CoV-2 の感染者数を含めた疫学的背景や採血システムに違いがあることから、国内献血者に由来する原料プール血漿中の SARS-CoV-2 に対する結合・中和抗体についてモニタリングを実施した。

B. 研究方法

1. ウイルス

12.2 Log₁₀ IU/mL の B19 を含む B19 陽性血清を、抗 B19 抗体陰性ヒト血漿により希釈し、原料プール血漿中の中和抗体価の評価に用いた。

国立感染症研究所より提供を受けた SARS-CoV-2 起源株 (2019-nCoV/Japan/TY/WK-521/2020)、オミクロン BA.1 株 (hCoV-19/Japan/TY38-873/2021, NIID)、オミクロン BA.2 株 (hCoV-19/Japan/TY40-385/2022, NIID)、オミクロン BA.5 株 (hCoV-19/Japan/TY41-702/2022,

NIID)、および研究協力者である塩田教授の研究室で分離された SARS-CoV-2 デルタ株 (hCoV-19/Japan/RIMD-DVI-16/2021) を用いて原料プール血漿の中和抗体価の評価に用いた。

2. B19 に対する中和抗体の評価

過去に報告した方法⁸⁾に基づき、次のように評価した。原料プール血漿を抗 B19 抗体陰性ヒト血漿で希釈して 2 倍希釈系列サンプルを調製した。12.2 Log₁₀ IU/mL の B19 を含む陽性血漿を抗 B19 抗体陰性ヒト血漿により 5,000 倍希釈して、8.5 Log₁₀ IU/mL の B19 を含む中和抗体価測定用サンプルを調製した。原料プール血漿の 2 倍希釈系列サンプルと中和抗体価測定用の B19 サンプルを等量混合し、37°C で 1 時間インキュベーションした後、混合液を細胞用培地で 10 倍希釈した。96 ウェルプレートにあらかじめ播種された KU812 細胞に、希釈済み混合液を 10 μL/well 添加して、37°C で 4 日間培養した。培養後、細胞から Total RNA を抽出し、B19 ゲノム由来のスプライシングされた mRNA を qPCR により定性的に検出し、検出されたウェルを感染成立と判断した。各希釈系列につき 5 回測定を行い、Karber 法により、50% の確率で B19 の感染を阻害する原料プール血漿の希釈倍数を算出し、本研究での中和抗体価とした。

3. 原料プール血漿中の SARS-CoV-2 抗原に対する結合抗体の評価

原料プール血漿中の SARS-CoV-2 のスパイクプロテインとヌクレオキャプシドに対する結合抗体は EIA 抗体測定キット (DK20-CoV4E、デンカ株式会社) を用いて評価した

4. SARS-CoV-2 各種株に対する中和抗体の評価

原料プール血漿を細胞用培地で希釈した 2 倍希釈系列サンプルと、100 TCID₅₀/ 50 μL の濃度に調製した SARS-CoV-2 サンプルを等量混合し、37°C で 1 時間インキュベーションした。あらかじめ 96 ウェルプレートに播種された Vero-E6 細胞に、30 μL/well の混合液を添加し、37°C で、起源株とデルタ株を評価する際には 2 日間、オミクロン株を評価する際には 3 日間培養した。培養後、各ウェルの細胞変性効果の有無を観察し、細胞変性効果を表すウェルの割合が 50% 以下となった希釈倍数のうち、最も小さい希釈倍数を本研究での中和抗体価とした。

(倫理面への配慮)

ヒト血漿を含むヒト組織の使用については、一般社団法人 日本血液製剤機構のヒト組織研究倫理審査委員会にて承認されている。

C. 研究結果

1. B19 感染効率の確認

中和抗体価を測定するための最適な B19 濃度を決定するため、B19 陽性血清を抗 B19 抗体陰性血漿により希釈し、4.2~10.2 Log₁₀ IU/mL の 10 倍希釈系列を調製した。各濃度の B19 を計 10 ウェルに添加し、B19 の感染が成立しているか否か評価した (表 1)。B19 の濃度が 7.2 Log₁₀ IU/mL に達して初めて感染が成立するウェルが確認され、以降の濃度では B19 を添加したすべてのウェルで感染が成立した。すべてのウェルで B19 が感染した濃度のうち、最も低い 8.2 Log₁₀ IU/mL を、中和抗体価測定用の B19 濃度に設定した。

2. 原料プール血漿中の B19 中和抗体価

2 ロットの原料プール血漿（ロット A と B）を抗 B19 抗体陰性血漿により希釈し、1～64 倍の 2 倍希釈系列を調製した。原料プール血漿の各希釈系列と中和抗体測定用 B19 サンプルを等量混合し、37°C で 1 時間インキュベーションした後、混合溶液を計 5 ウェルに添加し、B19 の感染が成立しているか評価した（表 2）。いずれの原料プール血漿でも 8 倍希釈に達して初めて感染が成立するウェルが確認され、以降の希釈倍数ではすべてのウェルで感染が成立した。ロット A と B の中和抗体価はそれぞれ 7.5 と 13.0 倍であり、感染を 100% 中和するエンドポイント希釈倍数はいずれも 4 倍であった（表 3）。

3. 原料プール血漿中の SARS-CoV-2 結合抗体価

プール血漿を構成する個別血漿の中で最も遅い採血日を原料プール血漿の採血日として便宜上設定し、2021 年の 1 月頃から 2022 年 4 月頃までに採血された原料プール血漿中の SARS-CoV-2 の 2 種のウイルスタンパク質であるスパイクプロテインとヌクレオキャプシドに対する結合抗体価を EIA 法により評価した。スパイクプロテインに対する結合抗体価は初回ワクチン接種者の増加に応じて、2021 年 8 月頃から上昇し、2021 年 11 月頃から一旦減少に転じた。その後、3 回目のワクチン接種者の増加に応じて、2022 年 2 月頃から抗体価が再上昇した（図 1）。また、ヌクレオキャプシドに対する結合抗体価は全評価期間で陽性と判断されるカットオフ値（15 BAU/mL）より低い値であった（図 2）。

4 原料プール血漿中の各種 SARS-CoV-2 株に対する中和抗体価

原料プール血漿中の各種 SARS-CoV-2 株に対する中和抗体価についても経時的に評価した。起源株

とデルタ株に対する中和抗体価は初回ワクチン接種者の増加に応じて、2021 年 8 月頃から中和抗体価が大きく上昇した。その後の 2021 年 11 月頃から、起源株に対する中和抗体価は減少に転じたものの、デルタ株に対してはほぼ一定の値で推移した（図 3、黒と紫線）。2022 年 2～3 月頃から、起源株とデルタ株に対する中和抗体価が再上昇した（図 3、黒と紫線）。起源株とデルタ株と異なり、初回ワクチン接種者が増加しても、オミクロン BA.1 株とオミクロン BA.2 株に対する中和抗体は低いままであった。しかしながら、2022 年 2～3 月頃から、オミクロン BA.5 も含めた 3 種のオミクロン株に対する中和抗体価が上昇した（図 3、青、赤および緑線）。

D. 考察

私達は、国内献血由来の原料プール血漿は B19 に対する FDA 勧告基準を満たすこと⁵⁻⁶⁾、血漿分画製剤の製造工程に導入されるウイルス除去・不活性化工程が B19 に対しても有効に機能することをこれまでに報告している⁸⁻¹¹⁾。しかしながら、FDA 勧告基準⁴⁾は、国外で界面活性剤処理された血漿の投与により感染が生じなかった B19 量に基づいており³⁾、国内献血に由来する原料プール血漿中の B19 に対する中和抗体価は反映されていない。本研究では、*In Vitro* 中和実験により抗 B19 中和抗体価を評価し、B19 に対する安全性を考察した。

In Vitro 中和実験では 8.2 Log₁₀ IU/mL の B19 を用いた。FDA 勧告基準より 4 Log 以上高い濃度でありながら、4 倍希釈した原料プール血漿でも B19 の感染は 100% 阻害されたことから、国内献血由来の原料プール血漿中には FDA 勧告基準相当の 4 Log₁₀ IU/mL の B19 を中和するのに十分な中和抗体を備えていると推測された。

2019年に中国 武漢市で発生した SARS-CoV-2 は瞬く間に世界に広がり、2020 年には世界的なパンデミックを引き起こした。日本と比較し、多数の感染者が報告された米国では、2020 年 3 月頃には SARS-CoV-2 に感染歴をもつ供血者が存在していたことが推測されている⁷⁾。しかしながら、疫学的背景や施策は地域ごとに異なり、SARS-CoV-2 パンデミックが国内献血者集団に与えた影響については十分に検証されていない。本研究では 2021 年 1 月から採血された献血血液に由来する原料プール血漿中の SARS-CoV-2 の結合・中和抗体を測定し、献血者集団の血清疫学に与えた影響について考察した。パンデミック発生からオミクロン株の報告まで、欧米と比較し国内感染者は比較的少なかったこと¹²⁾、さらには既感染者の献血は制限されていたこと¹³⁾、を反映し、2021 年 6 月頃までスパイクプロテインに対する結合抗体は検出されなかった。その後は、2021 年 5 月 14 日に mRNA ワクチン接種 48 時間経過後の献血が解禁されたことを反映し¹⁴⁾、2021 年 11 月頃まで抗体価は上昇した (図 1)。ワクチン中の抗原として含まれず、自然感染にのみ由来するヌクレオキャプシドに対する結合抗体価はカットオフ値未満であったことから (図 2)、2021 年 6~11 月に観察されたスパイクプロテインに対する結合抗体価の上昇は、SARS-CoV-2 のワクチン接種を受けた献血者に由来すると考えられた。スパイクプロテインに対する結合抗体価の上昇に一致して、起源株とデルタ株に対する中和抗体価は上昇した (図 3 黒と紫線)。その一方で、スパイクプロテインに変異が蓄積したオミクロン株に対する中和抗体価は、起源株とデルタ株のように大きく上昇することはなかった。(図 3 青と赤線)。また、2021 年 11 月頃から観察された抗体価の低下については、初回ワクチン

接種で誘導される抗体は数週間かけて上昇した後、減少に転じるという報告¹⁵⁻¹⁶⁾に一致していた。その後の 2022 年 2~3 月頃から、スパイクプロテインに対する結合抗体価は再上昇しており (図 1)、追加ワクチン接種者の増加が一要因と考えられるが、起源株とデルタ株のみならず 3 種のオミクロン株に対する中和抗体価についても上昇していた (図 3)。初回接種で誘導される抗体はオミクロン株に対する中和効果は弱かったことから (図 3 青と赤線)、追加ワクチン接種以外の要因、具体的には献血者集団中の既感染者が増加した可能性が考えられた。献血者集団に自然感染者が増加すれば、ヌクレオキャプシドに対する結合抗体価が上昇するはずであるが、上昇は観察されなかった (図 2)。ヌクレオキャプシドの結合抗体の測定に利用した EIA キットがオミクロン株の感染により誘導される抗体を認識できない可能性も有ることから、2022 年以降の献血者集団中の新型コロナウイルス既感染者を推定するためには他の方法が必要と考えられた。

E. 結論

B19 については、調査したロットは限定的ではあるが、国内献血由来の原料プール血漿中の B19 の中和抗体を確認し、*In Vitro* 中和実験を基にすれば FDA 勧告基準である 4 Log₁₀ IU/mL の B19 を中和するのに十分であることが推測された。この結果から、原料プール血漿中含まれ得る B19 は、実質的に感染性が消失して存在していると考えられた。但し、原料プール血漿中の抗体濃度について年差変動があるか、今後明らかにしていく予定である。

SARS-CoV-2 については、国内献血者集団が SARS-CoV-2 に対する抗体を保持し始めたのはワクチン接種経過後 48 時間の献血が解禁された 2021

年5月以降であり、米国と比較して1年以上遅かった。抗体価の推移は上昇後に一旦下降し、再上昇するウェーブ様のトレンドが観察された。興味深いことに、2022年3月以降ではオミクロン株に対しても中和抗体価が上昇していた。起源株に基づくワクチン接種だけでは説明できないことから、更なる解析・考察が必要と考えられた。

引用文献

- 1) 伝染性紅斑（ヒトパルボウイルス B19 感染症）IASR Vol. 37 p. 1-3: 2016年1月号
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/iasr/37/431j160303.pdf>
 - 2) Satake M, et al. Symptomatic parvovirus B19 infection caused by blood component transfusion. *Transfusion*. 2011 Sep;51(9):1887-95.
 - 3) Brown KE, *et al.* Summary of a workshop. *Transfusion*. 2001 Jan;41(1):130-5.
 - 4) Guidance for Industry:Nucleic Acid Testing (NAT) to Reduce the Possible Risk of HumanParvovirus B19 Transmission by Plasma-Derived Products U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research July 2009
<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/nucleic-acid-testing-reduce-possible-risk-parvovirus-b19-transmission-plasma-derived-products>
 - 5) 岸本ら、献血者における化学発光免疫測定法を用いた新ヒトパルボウイルス B19 抗原スクリーニングの遺伝子型検出に関する性能評価
Japanese Journal of Transfusion and Cell Therapy, Vol. 67. No. 1 67 (1) : 21–26, 2021
 - 6) Ikegawa M, et al. Screening for parvovirus B19 antigen through chemiluminescent enzyme immunoassay is equivalent to B19 nucleic acid amplification test-based screening of pooled plasma. *Transfusion*. 2021 Aug;61(8):2240-2244.
 - 7) Farcet MR, et al. Rapidly Increasing Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Neutralization by Intravenous Immunoglobulins Produced From Plasma Collected During the 2020 Pandemic. *J Infect Dis*. 2022 Oct 17;226(8):1357-1361.
 - 8) Hattori S, et al. Variability of parvovirus B19 to inactivation by liquid heating in plasma products. *Vox Sang*. 2007 Feb;92(2):121-4.
 - 9) Yunoki M, et al. Inactivation of parvovirus B19 by liquid heating incorporated in the manufacturing process of human intravenous immunoglobulin preparations. *Br J Haematol*. 2005 Feb;128(3):401-4.
 - 10) Tsujikawa M, et al. Variability of parvovirus B19 genotype 2 in plasma products with different compositions in the inactivation sensitivity by liquid-heating. *Vox Sang*. 2012 Feb;102(2):93-9
 - 11) Adan-Kubo J, et al. Microscopic visualization of virus removal by dedicated filters used in biopharmaceutical processing: Impact of membrane structure and localization of captured virus particles. *Biotechnol Prog*. 2019 Nov;35(6):e2875.
 - 12) WHO Coronavirus (CoVID-19) Dashboard
<https://covid19.who.int/>
 - 13) https://www.jrc.or.jp/donation/blood/news/2021/0825_020453.html
 - 14) https://www.jrc.or.jp/donation/blood/news/2021/0428_017376.html
 - 15) Canetti M, et al. Six-Month Follow-up after a Fourth BNT162b2 Vaccine Dose. *N Engl J Med*. 2022 Dec 1;387(22):2092-2094.
 - 16) Doria-Rose N, et al. mRNA-1273 Study Group. Antibody Persistence through 6 Months after the Second Dose of mRNA-1273 Vaccine for CoVid-19. *N Engl J Med*. 2021 Jun 10;384(23):2259-2261.
- 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
柚木 幹弘、瀬瀬 律子、塩田 達雄
人免疫グロブリン製剤の原料プール血漿中の抗 SARS-CoV-2 抗体価の変化と製剤への影響
第 63 回日本臨床ウイルス学会 東京
- H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1 B19 感染効率の確認

B19濃度 (Log ₁₀ IU/mL)	感染 / 添加ウェル数, (%)
10.2	10/10, (100%)
9.2	10/10, (100%)
8.2	10/10, (100%)
7.2	7/10, (70%)
6.2	0/10, (0%)
5.2	0/10, (0%)
4.2	0/10, (0%)

B19 陽性血清を抗 B19 抗体陰性血漿により表に示される濃度となるよう希釈して、各濃度あたり 10 ウェルの KU812 細胞に播種し、感染性を評価した。

表 2 8.2 Log₁₀ IU/mL の B19 に対する原料プール血漿 (2 ロット) の中和抗体価測定

原料プール血漿 の希釈率	ロットA	ロットB
	感染 / 添加ウェル数, (%)	感染 / 添加ウェル数, (%)
1	0/5, (0%)	0/5, (0%)
2	0/5, (0%)	0/5, (0%)
4	0/5, (0%)	0/5, (0%)
8	3/5, (60%)	2/5, (40%)
16	5/5, (100%)	3/5, (60%)
32	5/5, (100%)	4/5, (80%)
64	5/5, (100%)	ND

中和反応時に 8.2 Log₁₀ IU/mL となるようあらかじめ希釈した B19 陽性血清と 1~64 倍までの 2 倍希釈系列の原料プール血漿 (2 ロット) を等量混合して 37°C で 1 時間インキュベーションした後、5 ウェルの KU812 細胞に播種し、感染性を評価した。

表 3 原料プール血漿 (2 ロット) 中の B19 に対する中和抗体価とエンドポイント
エンドポイントについては感染を 100%抑制する最大希釈倍数を表した。

測定検体	中和抗体価 (D ₅₀) (倍)	エンドポイント (倍)
原料プール血漿 (ロットA)	7.5	4
原料プール血漿 (ロットB)	13.0	4

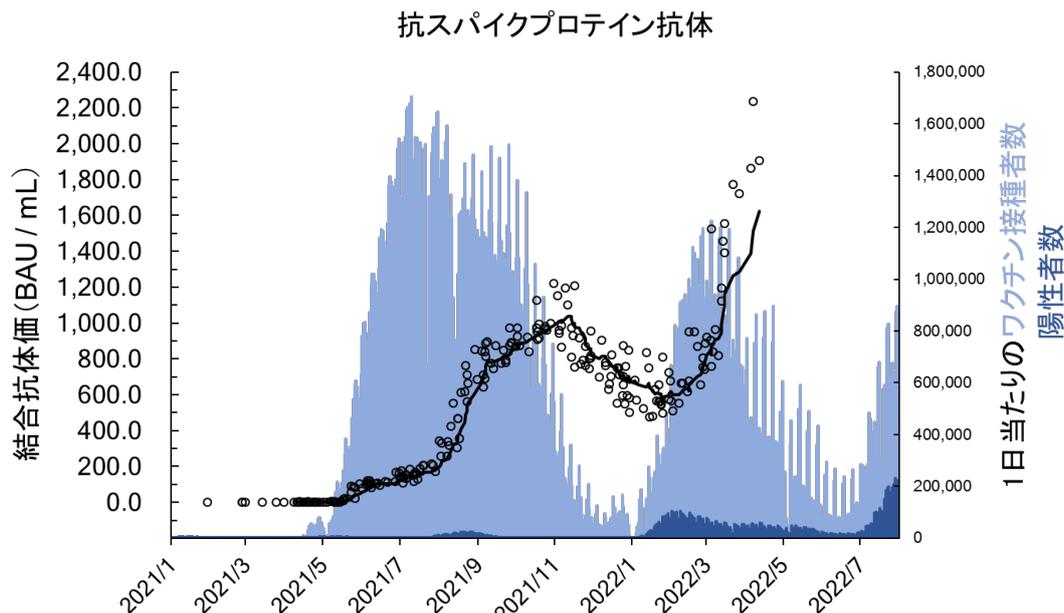


図1 原料プール血漿中の SARS-CoV-2 スパイクプロテインに対する結合抗体価の経時的変遷

構成する個別血漿の最終採血日を原料プール血漿の採血日として、2021 年より経時的に原料プール血漿中の SARS-CoV-2 スパイクプロテインに対する結合抗体を EIA 抗体測定キット (DK20-CoV4E、デンカ株式会社) により測定した。白丸は抗 SARS-CoV-2 スパイクプロテイン IgG の結合抗体価を示し、黒線は直近 10 ロットの移動平均線を示している。背景の薄青棒は一日当たりの SARS-CoV-2 ワクチン接種者数を、濃青棒は一日当たりの SARS-CoV-2 陽性者数をそれぞれ示している。

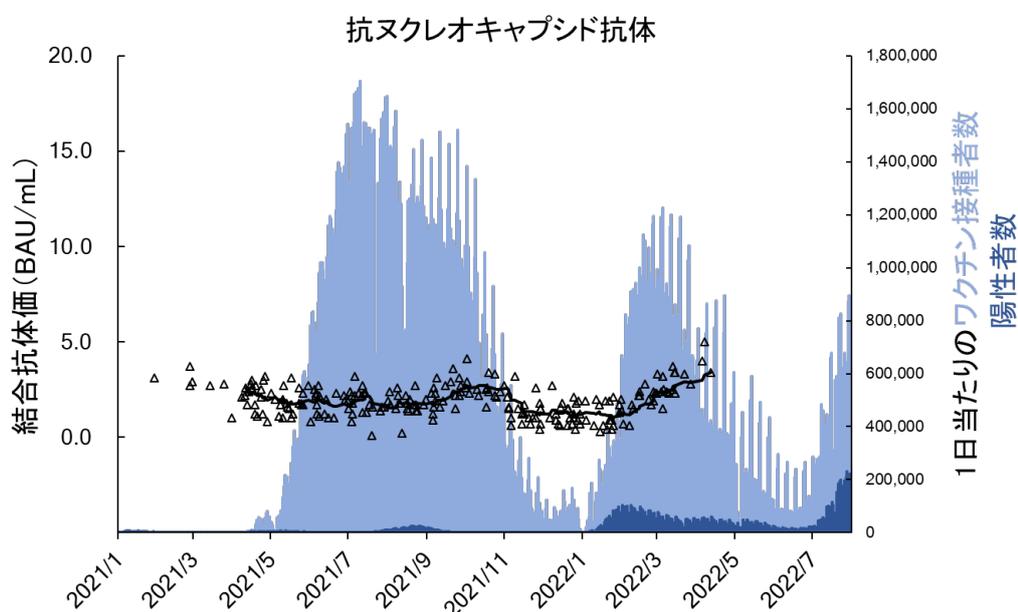


図2 原料プール血漿中の SARS-CoV-2 ヌクレオキャプシドに対する結合抗体価の経時的変遷

図1と同様にして、原料プール血漿中の SARS-CoV-2 ヌクレオキャプシドに対する結合抗体を評価した。△が抗 SARS-CoV-2 ヌクレオキャプシド IgG の結合抗体価を示す。なお、15 BAU/mL 未満は陰性となす。

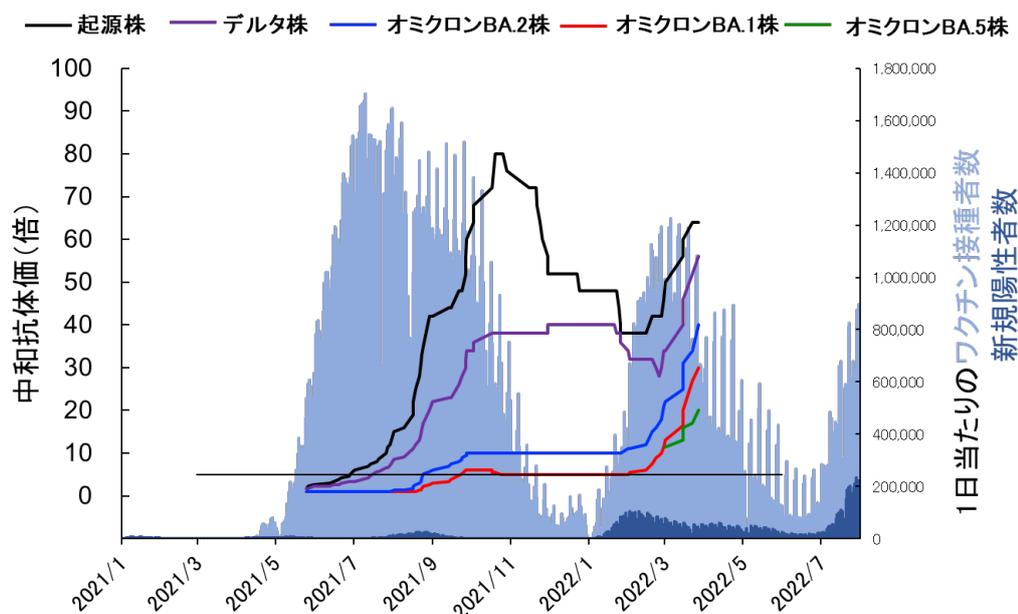


図3 原料プール血漿中の SARS-CoV-2 各種株に対する中和抗体価の評価

図1で使用した原料プール血漿の代表ロット中の5種のSARS-CoV-2株に対する中和抗体を測定した。黒線が起源株、紫線がデルタ株、青線がオミクロン株 BA.2 株、赤線がオミクロン株 BA.1 株、緑線がオミクロン株 BA.5 株をそれぞれ示している。背景の棒グラフは図1と同様。

新型コロナウイルスの代理ウイルス感染系の確立と中和活性解析系への応用

研究分担者 大隈 和 関西医科大学 医学部微生物学講座 教授

研究要旨：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染後の回復者やワクチン接種者の献血血液中には種々の抗ウイルス活性物質等が存在すると考えられるが、その安全性の評価は十分ではない。その評価にはSARS-CoV-2感染実験が必要であるが、本来BSL3レベルで行う必要があるため実施可能施設等の制限がある。そこで、BSL2レベルで取り扱い可能な水疱性口内炎ウイルス（VSV）を用いた代理ウイルスを開発し、SARS-CoV-2を用いたウイルス感染系との比較を行い、BSL2レベルで実施可能な感染評価系構築を目指す。本年度は、臨床検体からのSARS-CoV-2分離や、臨床検体由来あるいは国立感染症研究所から分与された複数の変異株等からのSARS-CoV-2スパイク遺伝子のクローニングを行った。

研究協力者：

上野孝治 関西医科大学 医学部微生物学講座
助教

A. 研究目的

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）について、感染後の回復者やワクチン接種者の献血血液の安全性が現在の検討課題の一つとなっている。これらの献血血液には中和抗体をはじめ種々の抗ウイルス活性物質が含まれると考えられるが、現状ではそれらの安全性の点が十分に評価されているとは言えない。この安全性評価のためには、SARS-CoV-2の感染実験による評価系が必要であるが、SARS-CoV-2はBSL3レベルでの取り扱いが求められるため、実施可能施設に限られる等の様々な制約があり、生ウイルスの使用は容易ではない。そこで本研究では、BSL2レベルでの取り扱いが可能な水疱性口内炎ウイルス（VSV）のエンベロープタンパク質（Gタンパク質）をSARS-CoV-2スパイクタンパク質に置き換えた代理ウイルスを開発する。この代理ウイルスによる *in vitro* 感染系は、血液中の中和抗体の検出等に有用であり、これらの性状を解析することで血液の安全性確保に貢献できる。

（倫理面への配慮）

本研究に用いる臨床検体は、関西医科大学のヒト倫理審査で承認後、同大学総合医療センターでインフォームドコンセントを取得して採取された、臨床検査や研究を目的とする検体の一部である。

B. 研究方法

・臨床検体からのSARS-CoV-2分離

臨床検体（患者由来咽頭ぬぐい液等）をVeroE6/TMPRSS2細胞に接種し、48～96時間後にウイルスを含む培養上清を回収した。回収した培養上清からRNAを抽出し、SARS-CoV-2特異的なRT-

PCRを用いてウイルスゲノムを増幅しコピー数を測定した。また、ゲノムの塩基配列解析を行った。

・SARS-CoV-2スパイク遺伝子のクローニング

各種SARS-CoV-2から抽出したウイルスRNAを用いて逆転写反応によりcDNAを合成した後、特異的PCRにてSARS-CoV-2スパイク遺伝子を増幅した。

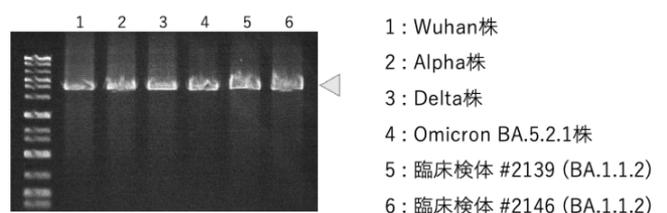
C. 研究結果

・臨床検体からのSARS-CoV-2分離

臨床検体11検体からSARS-CoV-2のウイルス分離を試み、うち10検体についてウイルスRNAの増加が認められた。これらのゲノムの塩基配列解析から、当時感染流行の中心であったOmicron BA.1.1.2株をはじめ、Omicron BA.1.1.1株やDelta AY.29株が分離できたことが分かった。

・SARS-CoV-2スパイク遺伝子のクローニング

SARS-CoV-2は株によりスパイクタンパク質の性質が大きく異なるため、各変異株のスパイクタンパク質を有する代理ウイルスが必要となる。国立感染症研究所から分与された各種SARS-CoV-2（Wuhan株、Alpha株、Delta株、Omicron BA.5.2.1株）および臨床検体由来Omicron BA.1.1.2株（2検体）から抽出したウイルスRNAを用いてスパイク遺伝子を増幅し電気泳動した結果、いずれのウイルスRNAからも予想された3.8kbp付近にバンドが検出された。（下図参照）



D. 考察

上記のように、臨床検体 11 検体中 10 検体でウイルス RNA が増幅でき、Omicron 株や Delta 株等の複数の変異株を分離することができた。国立感染症研究所から分与された Wuhan 株から Omicron XE 株までの 20 種の変異株を含む従来株も感染増殖させることができた。以上の結果から、今後、新規の変異株が出現した場合でも臨床検体からのウイルス分離が可能であると考えられた。

また、6 種類のウイルス株からのスパイク遺伝子のクローニングに関しても問題なく実行できており、ウイルス分離と同様にスパイク遺伝子のクローニングに関しても新規の変異株に対して速やかに対応可能であると考えられた。

E. 結論

今回、臨床検体からのウイルス分離、および各種ウイルス株からのスパイク遺伝子のクローニングを行った。現在、文部科学省へ組換えウイルス作成等に関する遺伝子組換え実験の大臣確認を申請しており、確認され次第、VSV ゲノムへのサブクローニングおよび SARS-CoV-2 代理ウイルスとしての組換え VSV の産生、それをを用いた感染系の構築を行い、SARS-CoV-2 生ウイルス感染系と比較し代理が可能かどうか検討する予定である。

本研究により、これまでBSL3レベルでの対応が必要であった献血血液に含まれる成分のSARS-CoV-2感染への影響の評価が、BSL2レベルで対応可能になると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

厚生労働科学研究費補助金

(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

分担研究報告書

新興・再興感染症の情報収集とリスクの評価,及びB型肝炎ウイルス等培養が困難な
ウイルスの培養法の改良と不活化法の評価

研究代表者 岡田義昭 (埼玉医科大学 医学部 客員准教授)

研究協力者 小林清子 (埼玉医科大学 医学部 講師)

研究要旨

B型肝炎ウイルス(以下HBV)は、血液製剤の安全性確保のために重要なウイルスであるが、*in vitro*で効率よく増殖する培養系は確立されていない。先行研究によって樹立したHBVに対して感受性が高い細胞株HepG2-NTCP#10を用いて5%アルブミン製剤における60°C-10時間の液状加熱によるHBVの不活化効率と抗HBs免疫グロブリン製剤による中和活性について簡便で正確な方法を検討した。感染2週間後のHBs-RNA量を測定することでHBs-DNAよりもバックグラウンドが激減し、より正確な感染性の評価が可能になった。液状加熱では10時間加熱で3log以上の不活化されたが、3時間加熱で3LogされたことからHBVは加熱に高感受性であることが実験で明らかにできた。また、抗HBs免疫グロブリン製剤による中和活性では、200単位(1バイアル)で少なくとも約 2×10^4 感染価のHBVを中和することが可能であった。

A. 研究目的

輸血用血液や血漿分画製剤は、スクリーニング検査の進歩によって感染症の発生頻度は激減したが、安全対策の上で重要なウイルスであるB型肝炎ウイルス(以下HBV)やC型肝炎ウイルスは未だ有用な培養系がないため、培養が可能でウイルス学的に性状が類似した動物由来のウイルスをモデルウイルスとして不活化や除去方の評価に用いられてきた。先行研究によって樹立した細胞株を用いてHBs-DNAの経時的増加を指標に感染性を評価したが、非特異的な細胞へのHBVの吸着等が課題となっていた。本研究ではウイ

ルスの複製で合成されるHBs-RNAを定量的に測定することで簡便でより正確な感染性の評価を目指した。

B. 研究方法

1. 細胞株の培養

細胞株HepG2-NTCP#10は感染1日前に 1×10^5 ずつコラーゲンコートした24穴プレートに蒔き、分子量8000のポリエチレングリコール(以下PEG)とDMSOをそれぞれ最終濃度4%、2%になるように添加した10%FCS—DMEM(high glucose)を用いて37°C、5%CO₂で培養した。

2. HBV陽性血漿

実験に用いたHBV陽性血漿は、日本赤十

字社より譲渡された献血者由来の血漿で genotype A、ウイルス量は約 5×10^8 IU/mL であった。凍結融解を少なくするために少量ずつ分注し、全ての実験に使用した血漿は融解した回数は同じにした。分注した血漿は -80°C で凍結保存した。

3. 5%アルブミン 製剤における液状加熱による HBV の不活化効率の評価

血漿分画製剤の指針に従って 5%アルブミン 製剤 10 容量に対し、1 容量の HBV 陽性血漿を添加した。検体を 2 分割し、1 つは 4 度で 10 時間反応させた。もう一方は 60°C で 3、6、10 時間の液状加熱を行なった。 60°C 加熱検体は、PBS にて $X 1 \sim X 10^{2.5}$ まで $10^{0.5}$ ずつ段階希釈し、 $100 \mu\text{L}$ ずつ細胞に添加した。また、 4°C 処理した検体は PBS にて $X 1 \sim X 10^{4.5}$ まで段階希釈し、 $100 \mu\text{L}$ ずつ細胞に添加した。感染させた細胞は、3～4 日毎に PEG と DMSO を添加した培養液で培養し、感染 1～3 週後に細胞を回収した。回収した細胞から DNA と RNA を抽出し、定量 PCR と定量 RT-PCR にて HBs-DNA と RNA 量をそれぞれ測定した。

4. 抗 HBs 免疫グロブリン製剤における HBV の中和活性の評価

市販の抗 HBs 免疫グロブリン製剤 ($200\text{U}/\text{mL}$) を購入し、 $100 \mu\text{L}$ に 0.03、0.1、0.3、1.0、3.0U の抗 HBs 抗体を含有するように PBS にて希釈した。HBV は $100 \mu\text{L}$ に 10 感染価と 30 感染価を有するように 5%アルブミン製剤で希釈し、それぞれの濃度の抗体とウイルス液を等量ずつ混合し、 37°C で 2 時間反応させた。感染価は PBS を用いてウイルスを希釈して細胞に感染させ、HBs-RNA が陽性となる最大希釈倍率を定義した。反応後、 $200 \mu\text{L}$ ずつ細胞に添

加し、感染させ 3～4 日毎に PEG と DMSO を添加した培養液で培地交換し、感染 2～3 週後に細胞を回収した。回収した細胞から RNA を抽出し、定量 RT-PCR にて HBs-RNA 量をそれぞれ測定した。

C. 研究結果

1. 5%アルブミン 製剤における液状加熱による HBV の不活化効率の評価

4°C -10 時間処理では 10^4 希釈まで経時的に 3 週目まで HBs-DNA 量が増加した。一方、おり、感染性有りと判断した。一方、HBs-RNA は感染 2 週までは HBs-DNA よりも高値だったが、3 週目には感染 2 週よりも低下した。一方、 60°C -10 時間の加熱では HBs-DNA は希釈倍率の小さい検体では減少しているも倍率によっては増加してものもあり、感染価の評価は困難であった。HBs-RNA は 1 倍希釈でも検出されず、感度以下にまで不活化されていた (図 1)。従って 3Log 以上不活化されたことが明らかになった。また、3 時間での加熱処理では 3Log、6 時間では検出感度以下にまで不活化されていた。

2. 抗 HBs 免疫グロブリン製剤における HBV の中和活性の評価

10 感染価の HBV との中和では、コントロールにおいて感染が成立したが、0.03 単位の抗体存在下では HBs-RNA は感度以下となり全て中和されたと判断した。30 感染価の HBV では 0.1 単位において HBs-RNA が検出され、0.3 単位以上の抗体では中和された。以上の結果から皮下注射用の抗 HBs 免疫グロブリン 200 単位 (1 バイアル) では少なくとも 2×10^4 感染価の HBV が中和できることを明らかにした。

D. 考察

先行研究で感染性評価の問題点を HBs-RNA を測定することによって解決することができた。しかも HBs-DNA による感染性評価では増減見るために経時的にサンプリングする必要があったが、HBs-RNA では感染 2 週後にピークとなるためワンポイントでの検体採取で良いことになり、評価が簡便になった。また、加熱時間による不活化効率を検討したが、3 時間で 3Log 不活化、6 時間では検出感度以下にまで不活化されたことが明らかとなり、HBV は血漿分画製剤の製造工程でよく用いられている液状加熱によって不活化し易いことが確認できた。また、中和活性をこれまで抗原と抗体の結合から評価されていたが、本測定法によってウイルスの感染性を中和する活性を直接的に評価することができるため genotype A 以外の遺伝子型に対する中和活性も測定可能であり、暴露した場合の感染予防や抗 HBs 免疫グロブリン製剤の品質管理に役立つものと考えられた。を HBV-RNA は HBV 粒子に混入することもあるが、我々の感染系では粒子由来の HBs-RNA は問題とならないと考えられた。

E. 結論

HBV の感染性の有無を HBs-RNA を定量することで検討し、60°C 液状加熱による不活化効果や抗 HBs 免疫グロブリン製剤による中和活性の評価に有用であることが確認できた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

- 1) 山麻衣子、玉栄建次、加藤由佳、鈴木雅之、内野富美子、山田攻、小原祥、天野博明、小林清子、岡田浩一、岡田義昭: カラム凝集法で検出感度以下であった不規則抗体による遅発性溶血性副反応の一例、第70回日本輸血・細胞治療学会総会、名古屋、2022.
- 2) 岡田義昭、小林清子、野島清子: B型肝炎ウイルスの *in vitro* 培養系を用いた血液製剤の不活化効果の評価と抗HBs免疫グロブリンの中和活性の測定 第70回日本輸血・細胞治療学会総会、名古屋、2022.
- 3) 岡田義昭、渡士幸一、野島清子: *In vitro* 感染系とB型肝炎ウイルス陽性血漿を用いた血漿分画製剤における液状加熱による不活化と抗HBs免疫グロブリン製剤による中和活性の評価 第69回日本ウイルス学会学術総会、長崎、2022.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

		希釈倍率	X1	X10	X10 ²	X10 ³	X10 ⁴	X10 ^{4.5}	N=2
4°C -10時間 HBs-DNA	1w		10,947	361.6	24.0	2.0	0	0	
	2w		88,706	3,657.0	196.2	12.6	7.8	0.6	
	3W		216,592.3	12,452.6	647.3	28.5	9.8	1.1	
	希釈倍率		X1	X10	X10 ²	X10 ³	X10 ⁴	X10 ^{4.5}	
4°C -10時間 HBs-RNA	1w		36,385.8	2,388.5	195.4	0.0	0.0	0.0	
	2w		90,231.1	6,790.1	345.4	28.1	0.0	0.0	
	3W		83,189.3	4,480.1	295.5	0.0	0.0	0.0	
	希釈倍率		X1	X10	X10 ²	X10 ³	X10 ⁴	X10 ^{4.5}	
60°C -10時間 HBs-DNA	2w		1,046.4	195.7	48.2	14.3	3.5	2.2	
	3w		790.9	177.4	54.9	14.5	7.0	0.8	
	希釈倍率		X1	X3	X10	X30	X10 ²	X10 ^{2.5}	
60°C -10時間 HBs-RNA	2w		0	0	0	0	0	0	
	3w		0	0	0	0	0	0	
	希釈倍率		X1	X3	X10	X30	X10 ²	X10 ^{2.5}	

図1 60°C-10時間の液状加熱によるHBVの不活化

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラリーサイエンス政策研究事業)

新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究
分担研究報告書

分担課題：血漿分画製剤における実ウイルスを用いたウイルス除去・不活化および安全性
の評価に関する研究

研究分担者 野島 清子 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 主任研究官
研究協力者 関 洋平 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 研究員
研究協力者 水上 拓郎 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 室長

研究要旨

グローバル化が進む現代においては国内ではほとんど発生例のないような感染症，特に海外での新興・再興感染症のアウトブレイクが国内に輸入されて問題となることが少なくない。海外で感染して帰国した場合であっても4週間の献血延期により献血血液の安全性が担保されるが、2020年の新型コロナウイルスアウトブレイクや、2022年のM痘感染のように国内でヒト-ヒト感染が起きた場合、またはデング熱のようにヒト-蚊-ヒト感染が生じた場合は、4週間の献血延期では無症候感染者が献血ドナーとなり得るため、ウイルス混入のリスクが残存する。献血血液に仮に病原体が混入した場合を想定し、特に血漿分画製剤の安全性を確保するために、血漿分画製剤の製造工程に含まれる、エタノール分画や加熱処理等の処理により、ウイルスがどの程度除去・不活化されるかは通常モデルウイルスを用いて評価されている。本研究では、モデルウイルスではなく実ウイルスを用いて除去・不活化について評価を行う。今年度は、2022年に日本で分離されたMポックスウイルス(MPXV_JPN2022_YK006)およびモデルウイルスであるワクシニアウイルス(LC16m8)を用いて、PBS下、およびウイルスを安定化しうる蛋白共存下(アルブミン)において、60度加熱による不活化処理による影響を評価した。その結果、PBS条件下およびアルブミン共存下の両方において、60度10分の加熱処理によりウイルスの感染性は検出限界以下となり、4log 以上の不活化効果が認められた。

A. 目的

グローバル化が進む現代においては国内ではほとんど発生例のないような感染症、特に海外での新興・再興感染症のアウトブレイクが国内に輸入されて問題となることが少なくない。海外で感染して帰国した場合であっても4週間の献血延期により献血血液の安全性が担保されるが、2020年の新型コロナウイルス感染症アウトブレイクや、2022年のM痘感染のように国内でヒト-ヒト感染が起きた場合、またはデング熱のようにヒト-蚊-ヒト感染が生じた場合は、4週間の献血延期では無症候感染者が献血ドナーとなり得るため、ウイルス混入のリスクが残存する。献血血液に仮に病原体が混入した場合を想定し、特に血漿分画製剤の安全性を確保するために、血漿分画製剤の製造工程に含まれる、エタノール分画や加熱処理等の処理により、ウイルスがどの程度除去・不活化されるかは通常モデルウイルスを用いて評価されている。Mポックス(M痘)ウイルスは、Lancet Infectious Diseases (2022年5月26日付)によると、2018-2021年に英国で発生した7症例の解析より皮膚病変より7例、血液から6例からウイルスDNAが検出されており、無症候感染者が献血ドナーとなった場合には献血血液へのウイルス混入のリスクが否定できない。

そこで、本研究では、モデルウイルスではなく実ウイルスを用いて除去・不活化について評価を行うことを目的として、2022年に日本で分離されたM痘ウイルス

(MPXV_JPN2022_ YK006)およびモデルウイルスであるワクシニアウイルス

(LC16m8)を用いて、PBS下、およびウイルスを安定化しうる蛋白共存下(アルブミン)において、60度加熱による不活化処理による影響を評価した。

B 研究方法

B-1 ウイルス

M痘ウイルス(MPXV)としては、2022年の日本での第一例目の感染者より分離されたMPXV_JPN2022_YK006を国立感染症研究所ウイルス1部より譲渡を受け、バイオセーフティレベルBSL3実験室内でウイルスを増やし実験に用いた。モデルウイルスとしてはワクシニアウイルスLC16m8を国立感染症研究所ウイルス1部より譲渡を受け、バイオセーフティレベルBSL2実験室内でウイルスを増やし実験に用いた。

B-2 細胞培養およびウイルスストックの作製

感染前日に、ウサギ腎由来細胞株RK-13細胞を150cm²Tフラスコ1本当たり2x10⁷個細胞となるようにFBS10%を含むDMDM(high glucose)に懸濁させて撒き、感染直前に培地を取り除き、FBS5%を含むDMDM培地で細胞を一度洗浄した。ワクシニアウイルスLC16m8およびM痘ウイルスMPXV_JPN2022_YK006をそれぞれBSL3、BSL2管理区域の実験室において、MOI=0.02~0.1で感染させ、FBS5%を含むDMDM培地中で2~3日培養した。半分以上の細胞に細胞変性効果(CPE)が見られ段階

で培養を停止し、細胞内で増えたウイルスを回収する目的で、培養フラスコをディープフリーザー（-80度）内で1日静置した。室温で融解後、細胞懸濁液を500xgで10分遠心分離し、回収した上清をウイルス液として500uLずつ分注したものを-80度で保管してウイルスストックとして実験に用いた。

B-3 感染価の測定（プラークアッセイ法）

感染前日に 1×10^5 cells/1mL/well となるように RK13 細胞を 24well 培養プレートに撒き、90%コンフルエントの状態に細胞を調整した。感染直前に培地を取り除く、新鮮な培地 5%FBS DMEM を 350uL ずつ各 well に添加し、予め 10 倍段階希釈した LC16m8 および MPXV_JPN2022_YK006 ウイルスを各 well に 50uL ずつ添加した。37°C 5%CO₂ のインキュベーターで 3~4 日間培養し、CPE が顕微鏡化で十分に確認できるようになったら各 well に 10%ホルマリン溶液を 1~2mL ずつ添加して 1 時間以上反応させてウイルスを不活化した。反応後のホルマリン液はホルマリン廃液として廃棄し、細胞を水で十分に洗浄後、クリスタルバイオレットを各 well に 200uL ずつ添加して細胞を染色し CPE を可視化した。各 well 中の CPE 数を計測し、感染価 PFU/mL を算出した。

B-4 加熱処理

新たに融解した LC16m8 および MPXV_JPN2022_YK006 ウイルスを PBS または 5% アルブミン製剤（日本血液製剤機構）に 1:9 の割合でスパイクし、チューブを密閉後にハイブリバックに入れて空気を充

分に抜きシーリングして、60°Cに設定したウォーターバスに沈めて（チューブが完全に隠れるまで）、10, 30, 60 分反応後に反応液を回収した。それぞれのウイルス液の力価をプラークアッセイ法により確認した。実験は独立して N=3 で実施した。

C.研究結果

モデルウイルスである LC16m8 および実ウイルス MPXV_JPN2022_YK006 を 1:9 の割合で PBS、5%アルブミン製剤にスパイクし、スパイクしたウイルス検体をウォーターバスに水没させて 60°Cで加熱処理を実施し、10, 30, 60 分後のウイルス力価を検討した。その結果、いずれのウイルスも 10 分の加熱処理では感染性が検出限界以下となり、30 分、60 分後においても感染性が認められなかった（検出限界は 20 PFU/mL）（図 1.2 参照、図 1 内点線は検出限界を示す）。また、PBS にスパイクしても蛋白濃度の高いアルブミン溶液にスパイクしてもウイルス力価に影響はなかった。

D 考察

エンベロープを有するウイルスは多くの不活化処理に対して感受性であり、エムポックスウイルスもワクシニアウイルスと同様に加熱感受性傾向を示すと考えられ、実際に日本国内で分離された MPXV_JPN2022_YK006 株を用いて 60°C加熱処理による不活化効果を検討した。通常、ウイルス不活化処理は PBS 下では感受性が高く、タンパクが共存するとウイルスが安定化されて不

活化処理に抵抗性を示す傾向があるが、MPXV_JPN2022_YK006 ウイルス株は、5%アルブミン存在下であっても加熱処理に感受性を持ち、10分の処理により検出限界以下となった。通常のエンベロープウイルスは、60度10分の加熱処理では中真温度がうまく上昇しない場合など、若干感染性が残存する傾向があるが、ワクシニアウイルスとエムポックスウイルスは特に10分の加熱処理でも感染性の残存がないことが示され、加熱への感受性がより強い可能性がある。これらのことから、仮に感染性を有したウイルスが原料血漿に混入した場合でも工程中の加熱工程で不活化され安全性が確保されることが示された。

今後はリアルタイムPCRによるMPXV_JPN2022_YK006の核酸定量系を立ち上げ、不活化と核酸残存の関連性についても評価を追加する。

F.健康危機情報

なし

G.研究発表

(ア) 論文発表

- 1) Miyamoto S, Kuroda Y, Kanno T, Ueno A, Shiwa-Sudo N, Iwata-Yoshikawa N, Sakai Y, Nagata N, Arashiro T, Ainai A, Moriyama S, Kishida N, Watanabe S, Nojima K, Seki Y, Mizukami T, Hasegawa H, Ebihara H, Fukushi S, Takahashi Y, Maeda K, Suzuki T. Saturation time of exposure interval for cross-neutralization response to SARS-CoV-2: Implications for vaccine dose interval. *iScience*. 2023; 26: 106694.
- 2) Seki Y, Yoshihara Y, Nojima K, Momose H, Fukushi S, Moriyama S, Wagatsuma A, Numata N, Sasaki K, Kuzuoka T, Yato Y, Takahashi Y, Maeda K, Suzuki T, Mizukami T, Hamaguchi I. Safety and immunogenicity of the Pfizer/BioNTech SARS-CoV-2 mRNA third booster vaccine dose against the BA.1 and BA.2 Omicron variants. *Med*. 2022; 3: 406-421.e4.
- 3) Miyamoto S, Arashiro T, Adachi Y, Moriyama S, Kinoshita H, Kanno T, Saito S, Katano H, Iida S, Ainai A, Kotaki R, Yamada S, Kuroda Y, Yamamoto T, Ishijima K, Park ES, Inoue Y, Kaku Y, Tobiume M, Iwata-Yoshikawa N, Shiwa-Sudo N, Tokunaga K, Ozono S, Hemmi T, Ueno A, Kishida N, Watanabe S, Nojima K, Seki Y, Mizukami T, Hasegawa H, Ebihara H, Maeda K, Fukushi S, Takahashi Y, Suzuki T. Vaccination-infection interval determines cross-neutralization potency to SARS-CoV-2 Omicron after breakthrough infection by other variants. *Med*. 2022; 3: 249-261.
- 4) Reiko Shimbashi, Teiichiro Shiino, Akira Ainai, Saya Moriyama, Satoru Arai, Saeko Morino, Sayaka Takanashi, Takeshi Arashiro, Motoi Suzuki, Yukimasa Matsuzawa, Kenichiro Kato, Mitsuru Hasegawa, Rie Koshida, Masami Kitaoka, Takafumi Ueno, Hidefumi Shimizu, Hiroyoshi Yuki, Tomoko Takeda, Fukumi Nakamura-Uchiyama, Kashiya Takasugi, Shun Iida, Tomoe Shimada, Hirofumi Kato, Tsuguto Fujimoto, Naoko Iwata-Yoshikawa, Kaori Sano, Souichi Yamada, Yudai Kuroda, Kazu Okuma, Kiyoko

Nojima, Noriyo Nagata, Shuetsu Fukushi, Ken Maeda, Yoshimasa Takahashi, Tadaki Suzuki, Makoto Ohnishi, Keiko Tanaka-Taya Specific COVID-19 risk behaviors and the preventive effect of personal protective equipment among healthcare workers in Japan . Glob Health Med. 2023 Feb 28;5(1):5-14

(イ) 学会発表

- 1) 水上 拓郎, 野島清子, 関洋平, 石井美枝子, 今井恵子, 森内浩幸, 内丸薫, 明里宏文, 蕎麦田理英子, 佐竹正博, 浜口功. ヒト化マウスを用いた HTLV-1 母子感染モデルにおける感染クローン解析, 第 8 回日本 HTLV-1 学会 2022 年 11 月 4 日
- 2) 関洋平, 水上拓郎, 平舘裕希, 永田幸, 手塚健太, 野島清子, 村田めぐみ, 兼子明久, 森本 真弓, 長谷川ゆり, 淵直樹, 三浦清徳, 明里宏文, 浜口功. STLV-1 自然感染ニホンザルモデルを用いた水平感染に寄与する HTLV-1 の新たな標的細胞の同定, 第 8 回日本 HTLV-1 学会 2022 年 11 月 4 日
- 3) 関洋平, 野島清子, 百瀬暖佳, 富士秀悦, 森山彩野, 高橋宜聖, 前田健,

鈴木忠樹, 水上拓郎, 吉原愛雄, 濱口功, SARS-CoV-2 mRNA ワクチン(コミナティ筋注)ブースター接種による SARS-CoV-2 オミクロン変異株に対する中和能及び安全性の評価, 第 69 回 日本ウイルス学会 2022 年 11 月長崎

- 4) 野島清子, 水上拓郎, 関洋平, 濱口功, 岡田義昭 血液製剤の安全性確保のための SARS-CoV-2 不活化の検討. 第 69 回 日本ウイルス学会 2022 年 11 月長崎
- 5) 岡田義昭, 渡士幸一, 野島清子. In vitro 感染系と B 型肝炎ウイルス陽性血漿を用いた血漿分画製剤における液状加熱による不活化と抗 HBs 免疫グロブリン製剤による中和活性の評価, 第 69 回 日本ウイルス学会 2022 年 11 月長崎

6)

H.知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

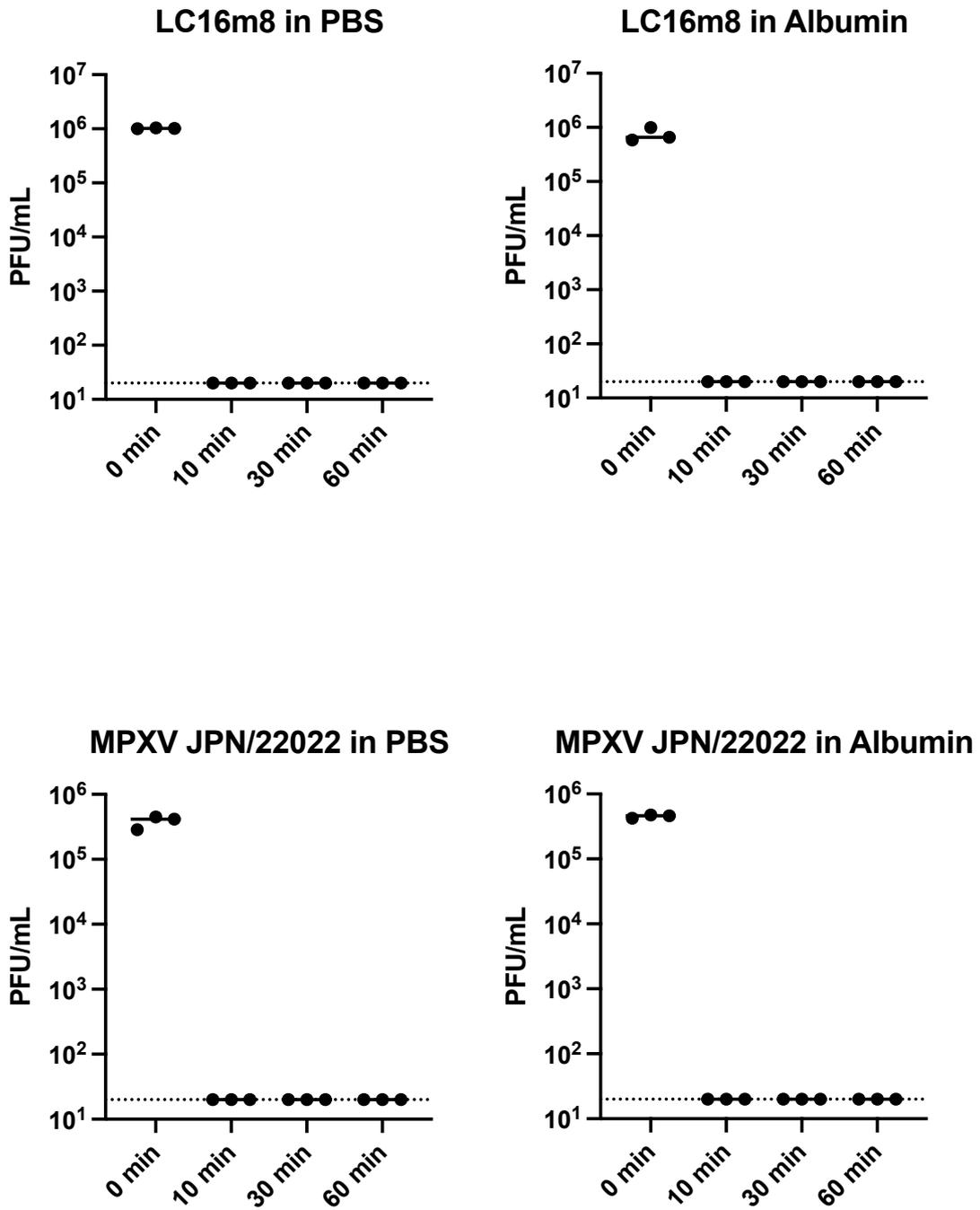


図1 ワクシニアウイルスおよびM痘ウイルスの60度加熱処理による不活化

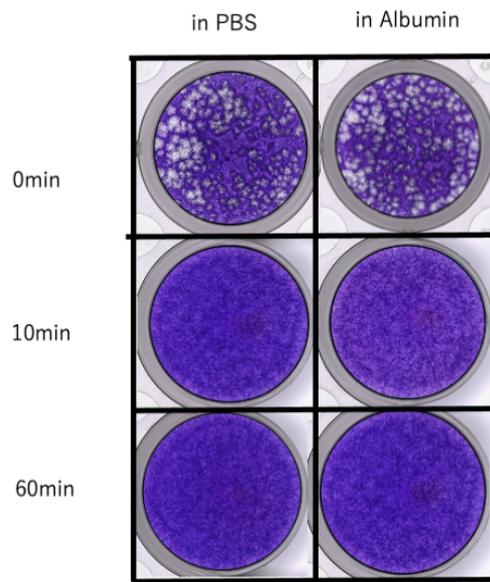


図 2 M 痘ウイルスの 60 度加熱処理による不活化 (プラークアッセイ)

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業

新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究

分担研究報告書

献血血液に影響する可能性のある人畜共通感染症等の
情報収集とリスク評価及びその検査法の開発

研究分担者 水上 拓郎 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 室長
研究協力者 野島 清子 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 主任研究官
研究協力者 関 洋平 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 研究員

研究要旨：献血血液のスクリーニング法の改良・進歩や製造工程中の不活化処理等の技術進歩により、血液製剤による輸血後感染症は減少し、血液製剤の安全性は飛躍的に向上した。2019 年末に発生した新型コロナウイルスの国内外でのパンデミックにより、新型コロナウイルスの献血血液への混入が懸念され、献血血液の安全性確保・及びコロナ対策が課題となった。その一方でデング熱やチクングニア熱等の流行地域において蚊媒介の感染症や他の新興・再興感染症の対策が疎かになっている可能性がある。また地球規模の気候変動と、コロナ終息による経済活動の再開と共にこれらの感染症がパンデミックとなり国内に持ち込まれる可能性も引き続き危惧される。また伴侶動物としてペットとの濃厚接触が生じており、人畜共通感染症が血液を介して感染するリスクも評価する必要がある。

本研究班では WHO や CDC, 各地域の感染症研究組織等や論文等から新興・再興感染症等の情報を集め、リスクを評価し、関係行政機関に情報提供を行うと共にリスクが高い感染症に対しては、市販されている検査法の評価を行うとともに、必要に応じ、血液から高感度に病原体遺伝子を検出できる方法を開発することを目的とした。

2022 年度は国内・国外で発生している感染症に関し、ProMED Mail 等の情報に基づき、WHO のサイト、CDC, ECDC, 各保健機関のサイトを適宜確認し、また論文報告されているものに関しては、内容を精査した。また国内感染症発生動向も注視し、国内で発生している感染症についても検討した。その結果、2022 年度は SARS-CoV-2 の感染拡大（第 7 波・第 8 波）の中で、様々な新興・再興感染症のアウトブレイクが確認された。中でも 2022 年 7 月 25 日に WHO が緊急事態（PHEIC）に該当すると宣言したサル痘に関しては、体制整備が完全ではない可能性がある。そこで、今後はサル痘に絞って、標準品・参照品を用いて国内で市販されている核酸検査法の評価を行い、必要に応じ、献血血液での検査法を確立すべきであると考えられた。

A. 研究目的

献血血液のスクリーニング法の改良・進歩や製造工程中の不活化処理等の技術進歩により、血液製剤による輸血後感染症は激減し、血液製剤の安全性は飛躍的に向上したといえる。2019 年末に発生した新型コロナ

ウイルスの国内外でのパンデミックにより、新型コロナウイルスの献血血液への混入が懸念され献血血液の安全性確保が課題となったが、その一方でデング熱やチクングニア熱等の流行地域において新型コロナウイルス対策が優先されたことによって蚊媒介

の感染症や他の新興・再興感染症の対策が疎かになっている可能性がある。また地球規模の気候変動とコロナ終息に伴う経済活動の再開により、これらの感染症が国内に持ち込まれ、パンデミックとなる可能性も引き続き危惧される。また伴侶動物としてペットとの濃厚接触が生じており、動物由来感染症が血液を介して感染するリスクも評価する必要があると考えられる。

そこで本研究班では WHO や CDC, 各地域の感染症研究組織等や論文等から新興・再興感染症等の情報を集め、リスクを評価し、関係行政機関に情報提供を行うと共にリスクが高い感染症に対しては、市販されている検査法の評価を行うとともに、必要に応じ、血液から高感度に病原体遺伝子を検出できる方法を開発することを目的とした。

B. 研究方法

WHO や CDC, 各地域の感染症研究組織等や論文等から新興・再興感染症等の情報を集め、リスクを評価し、関係行政機関に情報提供を行うと共にリスクが高い感染症に対しては、市販されている検査法の評価を行うとともに、必要に応じ、血液から高感度に病原体遺伝子を検出できる方法を開発することを目的とした。

情報収集とリスクアセスメント

研究開始と同時に国内・国外で発生している感染症に関し、ProMED Mail 等の情報に基づき、WHO のサイト、CDC, ECDC, 各保健機関のサイトを確認し、また論文報告されているものに関しては、内容を確認した。また、国内感染症発生動向も確認し、国内で発生している感染症についても検討した。

(倫理面への配慮)

特になし。

C. 研究結果

2022 年度 海外の感染症動向

2022 年は原因不明の小児重症肝炎が 4 月以降発生した。5 月にイギリスでサル痘が発生した。また 7 月に米国でポリオワクチン由来の VDPV2, 2023 年 3 月に VDPV1 が発生し、いずれも渡航歴のないワクチン未接種者であった。ニューヨーク州やカナダでは下水サンプルから VDPV2 の検出が続いている。2022 年 9 月、ウガンダで Ebola ウイルスのアウトブレイクが発生した。また英国では 10 月以降、多数の H5N1 の高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) の発生を確認しており、イギリスでの警戒レベルを 3 に引き上げた。人での感染は報告されていないが、哺乳類への感染に有利となる遺伝子変異が確認されている。また米国では MIS-C (小児 COVID-19 関連多系統炎症性症候群) も多数報告された。2023 年 2 月に赤道ギニアでマールブルグ病が発生し、3 月 21 日現在、確定 9 例の内、7 例が死亡となっている。疑い例は 6 例。赤道ギニアでの発生地域の拡大により周辺地域への広がりも懸念されている。また 3 月 16 日にはタンザニア連合共和国で 7 歳の原因不明疾患の発生を報告し、PCR 検査の結果、国内初のマールブルグ病であることが宣言された。

2022 年度の国内動向

国内の発生動向では、SFTS の発生が 5 月 13 日に富山県で初めて確認され、当初の発生地域であった西日本から中日本、東日本

地域へと拡大していることが明らかとなった。

病原体ごとの情報収集結果とアセスメント **重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)**

SFTS はブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される SFTSV によって引き起こされる新しいダニ媒介性感染症で、2011年に中国の研究者らによって報告された。2013年1月に国内で海外渡航歴のない SFTS 症例が初めて報告され、同年3月に感染症法上で全数把握の必要な四類感染症に指定されている。以後、西日本を中心に確認されるようになった。感染経路はマダニによるが、患者由来の血液等を含む体液との接触により人から人への感染も報告されており、献血血液に関しても注視する必要がある。また、伴侶動物から飼い主への感染も報告されている。SFTSV を保有したマダニは全国で確認されており、また、不明熱患者の調査では、関東地方における感染例も確認されている。2022年度には富山県で発生し、西日本から中日本、東日本地域へと拡大していることが明らかとなった。届出は、マダニが活発になる5~10月に多く、60代以上が89%を占めている。2023年1月31日時点で805名の患者が報告され96例が死亡している。2022年度は116例の感染が報告され、12名が亡くなっている。

小児重症肝炎

2022年4月にWHOは原因不明の小児の重症肝炎が英国で74例、アイルランドで5例、スペインで3例、米国で3例発生していることを報告された。その後、アラバマ州でも9例発生し、その内5例でアデノウイルス

41型が検出されたという報告があった。イギリスでもその後症例が増加し、4月22日で108例の報告、77%でアデノウイルス (ADV)が検出されたという報告があった。5月6日になるとEU/EEA15カ国からも95例の発生が報告され、13例でADVが検出された。アルゼンチン、インドネシア、イスラエル、日本、パナマ、パステチナ、セルビア、シンガポールからも報告された。英国の保健省による中間報告では、年齢は3-5歳で男女比は1:1、86%が白人で、72%の症例でアデノウイルス及び18%でSARS-CoV-2が検出されているというものであった。またアデノウイルス随伴ウイルス2(AAV-2)が19例中9例で検出されている。その後も増加し続け、5月19日には全世界で650例、死亡も14例報告された。5月26日には日本でも31例報告されている。世界的には18週以降減少に転じ、32週以降は週あたり5名以下となった。日本では2023年3月16日の段階で162例が報告され、肝移植を要した3例が報告され、死亡は1例報告されている。症状の発症時期・居住地域、検出された病原体に関し、特定の傾向は認められていない。

ADV 検査陽性例16例の内、欧米で検出されている41型が検出された例は2例であった。英国での解析から、ADV40/41、AAV-2の検出及びその関与が示唆されたが、米国、本邦ではあまり検出されておらず、引き続き、原因の解明が待たれる。一方、欧州での発生減少により、ECDCは2022年末に月次報告を修了した。

サル痘

2022年5月16日にナイジェリアから英国に帰国した1名がサル痘と診断された。そ

の後、この1名と関係のない渡航歴のない8名もサル痘と診断され、また全員が同性間性交渉をする男性 (MSM)であることが報告された。5月18日にはスペインで23例の疑い、ポルトガルで5例の確定診断が報告され、ポルトガル症例の解析から、西アフリカ型であることが判明した。2022年5月26日付の *Lancet Infectious Diseases* に2018-2021年に英国で発生した7症例の解析結果が報告され、皮膚病変より7例、血液から6例のMPXVが検出された旨が報告された。これにより、献血血液中にMPXVゲノムが混入するリスクがあることが判明した。5月中に33カ国399例にまで拡大した。6月にはコンゴからの216例の解析でやはり上気道・血液よりMPXVゲノムが検出されたという報告があった。6月23日時点で39カ国1500例を超えており、WHOは7月23日に事務局長によりは緊急事態 (PHEIC) に該当すると宣言した。

本邦でも7月25日に東京で、渡航先でサル痘患者に接触歴のあるサル痘患者が初確認された。以後、渡航歴のある患者が月1～2例報告されていたが、9月以降渡航歴のない事例が発生していた。年末12月以降、2023年1月より関東近郊でサル痘患者が急増し、3月8日時点で31名のサル痘患者が報告されている。

世界的には8月をピークに欧米・欧州での発生が減少傾向になり、南アメリカや日本・韓国・中国を含む西太平洋地域での発生が増加してきている。2023年3月30日のWHOの *External Situation Report19* によると、全世界110カ国で86,724名の患者が報告され、112の死亡例が報告されている。

その後も、血液検体からのウイルスゲノ

ムの検出は報告されてきたが、サル痘ウイルスの分離は報告されていない。また輸血による感染事例も報告されていない。2023年2月に *Transfusion* 誌に報告された、英国南部で2022年8月19日から24日の間に採取された合計10,896の献血サンプルを545個のミニプール血漿としてMpxvウイルスの陽性頻度を評価した論文報告からも、ウイルスは検出されておらず、英国の献血制限が有効であることを示している。

本邦でも2022年7月29日付 薬生発0729第1号でのサル痘患者等からの採血制限の対策が公示されているが、現時点での対応としては問題ないと考えられる。

D. 考察

2022年度はSARS-CoV-2に続いて、さまざまな感染症アウトブレイクが確認された。特にサル痘は本分担研究課題として動物由来感染症であることを鑑みると、重要であり、国内整備が遅れていると考えられる。そこで2023年度は、サル痘の核酸検査系に絞り、情報収集とともに、サル痘の標準品の作成を行い、それらが適正に評価可能か検証することとした。

E. 結論

2022年度はSARS-CoV-2の感染拡大 (第7波・第8波) の中で、様々な新興・再興感染症のアウトブレイクが確認された。中でも2022年7月25日にWHOが緊急事態 (PHEIC) に該当すると宣言したサル痘に関しては、体制整備が完全ではない可能性がある。そこで、2023年度はサル痘に絞り、標準品・参照品を用いた核酸検査法の評価を行い、献血血液での検査法を確立すべきであ

ると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyamoto S, Kuroda Y, Kanno T, Ueno A, Shiwa-Sudo N, Iwata-Yoshikawa N, Sakai Y, Nagata N, Arashiro T, Ainai A, Moriyama S, Kishida N, Watanabe S, Nojima K, Seki Y, Mizukami T, Hasegawa H, Ebihara H, Fukushi S, Takahashi Y, Maeda K, Suzuki T. Saturation time of exposure interval for cross-neutralization response to SARS-CoV-2: Implications for vaccine dose interval. *iScience*. in press
- 2) Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhashi K, Mizukami T, Matsumura T, Takahashi Y, Hamaguchi I. Systemically inoculated adjuvants stimulate pDC-dependent IgA response in local site. *Mucosal Immunol*. 2023; S1933-0219 (23) 00018-1.
- 3) Sasaki E, Furuhashi K, Mizukami T, Hamaguchi I. An investigation and assessment of the muscle damage and inflammation at injection site of aluminum-adjuvanted vaccines in guinea pigs. *J Toxicol Sci*. 2022;47: 439-451.
- 4) Seki Y, Yoshihara Y, Nojima K, Momose H, Fukushi S, Moriyama S, Wagatsuma A, Numata N, Sasaki K, Kuzuoka T, Yato Y, Takahashi Y, Maeda K, Suzuki T, Mizukami T, Hamaguchi I. Safety and immunogenicity of the Pfizer/BioNTech SARS-CoV-2 mRNA third booster vaccine dose against the BA.1 and BA.2 Omicron variants. *Med*. 2022; 3: 406-421.e4.
- 5) Miyamoto S, Arashiro T, Adachi Y, Moriyama S, Kinoshita H, Kanno T, Saito S, Katano H, Iida S, Ainai A, Kotaki R, Yamada S, Kuroda Y, Yamamoto T, Ishijima K, Park ES, Inoue Y, Kaku Y, Tobiume M, Iwata-Yoshikawa N, Shiwa-Sudo N, Tokunaga K, Ozono S, Hemmi T, Ueno A, Kishida N, Watanabe S, Nojima K, Seki Y, Mizukami T, Hasegawa H, Ebihara H, Maeda K, Fukushi S, Takahashi Y, Suzuki T. Vaccination-infection interval determines cross-neutralization potency to SARS-CoV-2 Omicron after breakthrough infection by other variants. *Med*. 2022; 3: 249-261.
- 6) Viviani L, Reid K, Gastineau T, Milne C, Smith D, Levis R, Lei D, van Ooij M, Gilbert PA, Vandeputte J, Xie J, Madhuri L, Shaid S, Kubiak V, Suri R, Mizukami T, Shirasaki Y, Li X, Zhou YY, Trapkova A, Goel S, Prakash J, Subagio AA, Suwarni E, Jung KJ, Sanyal G, Das P, Coppens E, Wright D, Peng Z, Northeved H, Jungbäck C, Kirpitchenok T, Del Pace L, Seo B, Poojary B, Ottoni A. Accelerating Global Deletion of the Abnormal Toxicity Test for vaccines and biologicals. Planning common next steps. A workshop Report. *Biologicals*. 2022; 78: 17-26.

2. 学会発表

- 1) 水上 拓郎, 野島清子, 関洋平, 石井美枝子, 今井恵子, 森内浩幸, 内丸薫, 明里宏文, 蕎麦田理英子, 佐竹正博, 浜口功. ヒト化マウスを用いた HTLV-1 母子感染モデルにおける感染クローン解析, 第8回日本 HTLV-1 学会 2022年11月4日

- 2) 関洋平, 水上拓郎, 平舘裕希, 永田幸, 手塚健太, 野島清子, 村田めぐみ, 兼子明久, 森本 真弓, 長谷川ゆり, 淵直樹, 三浦清徳, 明里宏文, 浜口功. STLV-1 自然感染ニホンザルモデルを用いた水平感染に寄与する HTLV-1 の新たな標的細胞の同定, 第 8 回日本 HTLV-1 学会 2022 年 11 月 4 日
- 3) Maureen Kidiga, Megumi Murata, Poonam Grover, Hirotaka Ode, Yasumasa Iwatani, Ayaka Washizaki, Yohei Seki, Mayumi Morimoto, Yakayoshi Natsume, Akihisa Kaneko, Madoka Kuramitsu, Jun-ichirou Yasunaga, Masao Matsuoka, Takuo Mizukami, Hirofumi Akari. Occult STLV-1 infection: persistent STLV-1 infection without seroconversion. 第 8 回日本 HTLV-1 学会 2022 年 11 月 4 日
- 4) Poonam Grover, Megumi Murata, Maureen Kidiga, Hirotaka Ode, Yasumasa Iwatani, Ayaka Washizaki, Mayumi Morimoto, Takayoshi Natsume, Akihisa Kaneko, Kubota Yuiko, Jun-ichiro Yasunaga, Masao Matsuoka, Madoka Kuramitsu, Yohei Seki, Takuo Mizukami, Hirofumi Akari. STLV-1 remission in infants of Japanese macaques: New insight into mechanism of retroviral MTCT. 第 8 回日本 HTLV-1 学会 2022 年 11 月 4 日
- 5) Maureen Inyangu Kidiga, Megumi Murata, Poonam Grover, Ayaka Washizaki, Yohei Seki, Hirotaka Ode, Yasumasa Iwatani, Mayumi Morimoto, Takayoshi Natsume, Akihisa Kaneko, Madoka Kuramitsu, Jun-ichiro Yasunaga, Masao Matsuoka, Takuo Mizukami, Hirofumi Akari. Occult STLV-1 infection: persistent de novo STLV-1 infection without seroconversion. 第 69 回日本ウイルス学会, 11 月 14 日, 長崎
- 6) Poonam Grover, Megumi Murata, Maureen Kidiga, Hirotaka Ode, Yasumasa Iwatani, Ayaka Washizaki, Mayumi Morimoto, Takayoshi Natsume, Akihisa Kaneko, Yuiko Kubota, Jun-ichirou Yasunaga, Masao Matsuoka, Madoka Kuramitsu, Yohei Seki, Takuo Mizukami, Hirofumi Akari. STLV-1 remission in infants of Japanese macaques: New insight into mechanism of delta retroviruses transmission. 第 69 回日本ウイルス学会, 11 月 14 日, 長崎
- 7) 関洋平, 野島清子, 百瀬暖佳, 福士秀悦, 森山彩野, 高橋宜聖, 前田健, 鈴木忠樹, 水上拓郎, 吉原愛雄, 濱口功. SARS-CoV-2 mRNA ワクチン(コミナティ筋注)ブースター接種による SARS-CoV-2 オミクロン変異株に対する中和能及び安全性の評価, 第 69 回日本ウイルス学会, 11 月 14 日, 長崎なし。
- 8) 水上拓郎, 野島清子, 関洋平, 百瀬暖佳, 福士秀悦, 森山彩野, 石井美枝子, 今井恵子, 高橋宜聖, 前田健, 鈴木忠樹, 吉原愛雄, 濱口功. SARS-CoV-2 mRNA ワクチン(コミナティ筋注)ブースター接種による SARS-CoV-2 オミクロン変異株に対する中和能及び安全性に関する研究. 第 29 回日本ワクチン学会学術集会, 11 月 26 日, 香川
- 9) 水上拓郎 ワクチン・アジュバントの次世代安全性評価法の開発. 第 1 回 近未来ワクチンフォーラム. 2023 年 1 月 17 日 大阪

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。

別紙4

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
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
なし					

厚生労働大臣 殿

機関名 埼玉医科大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 別所 正美

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 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業
2. 研究課題名 新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 医学部 ・ 客員准教授
(氏名・フリガナ) 岡田 義昭 ・ オカダ ヨシアキ

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。

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。

1. 研究事業名 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業

2. 研究課題名 新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究

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) 林 昌宏・イム チャンガン

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。

厚生労働大臣 殿

機関名 一般社団法人日本血液製剤機構

所属研究機関長 職名 中央研究所長

氏名 浦山 昭人

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 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業
- 研究課題名 新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究
- 研究者名 (所属部署・職名) 感染性病原体研究室・室長
(氏名・フリガナ) 浦山 健 (ウラヤマ タケル)

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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	日本血液製剤機構	<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。

厚生労働大臣 殿

機関名 関西医科大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 友田 幸一

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 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業
2. 研究課題名 新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 医学部 教授
- (氏名・フリガナ) 大隈 和 (オオクマ カズ)

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。

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。

1. 研究事業名 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業
2. 研究課題名 新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 次世代生物学的製剤研究センター 第一室 主任研究官
(氏名・フリガナ) 野島清子 (ノジマキヨコ)

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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立感染症研究所	<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。

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。

1. 研究事業名 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業

2. 研究課題名 新興・再興感染症等の感染症から献血由来の血液製剤の安全性を確保するための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 室長

(氏名・フリガナ) 水上 拓郎 (ミズカミ タクオ)

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。