

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5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6(2024)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 5

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 6-P 8

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 P 9-P19

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 P20-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-P28

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 P29-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-P43

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

P44-P46

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. 欧州で検出されたウツウイルスの病原性を解析し、マウスでは脳内接種での病原性は確認できたが、腹腔内では確認できなかった。また、世界各地での蚊媒介ウイルスの流行状況の情報を収集した。
2. 国内採血の原料血漿プール及びグロブリン製剤中の抗パルボウイルス B19V 抗体による中和活性を測定したところ、FDA 基準である $4\text{Log}_{10}\text{IU/mL}$ を十分に中和可能な値であった。また、新型コロナウイルスのスパイクタンパク質に対する抗体価は、ワクチン接種数や流行によって上昇するが、維持できず暫時下降するウェーブ状の傾向が観察された。
3. HBV の *in vitro* 培養系を用いて有機溶媒/界面活性剤(S/D)処理による不活化の効率を評価した。1時間では感染性が残存するも3時間では検出限度以下にまで不活化できた。モデルウイルスである仮性狂犬病と同様な挙動を示すことが確認できた。
4. BSL2 での新型コロナウイルス感染等の解析を可能にする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たが、新型コロナウイルスの S タンパク遺伝子に存在する ER retention signal のため代理ウイルスの産生は認められなかった。
5. 3種類の Mpox を用いて PBS や生食、アルブミン での液状化熱に対する不活化効果や酸処理による効果を検討し、いずれも効率よく不活化できる HO や CDC 等から新興再興感染症の情報を集め、リスクを検討した。また、Mpox の核酸増幅試薬の精度を確認した。ことを明らかにした。
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。新型コロナウイルス感染の収束に伴い種々の感染症が確認されたが、特にデングウイルスの流行が世界各地で発生している。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、標準品・参照品を用いて国内で市販されている核酸検査キットの精度管理を行い十分な検出感度があることを確認した。

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
センター長

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。更に新型コロナウイルスの流行によって途上国の感染対策が疎かになったことに加えて、新型コロナウイルスの流行が収束したことによって国際間の人的交流が活性化されている。このような状況下では様々な新興・再興感染症が国際的に流行する危険性が高いと言わざるを得ない。本研究班では新興・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 WHO や CDC、EU 等から感染症の情報を集め、デング熱やチクングニア熱等のリスクを評価することで血液製剤の安全性の脅威となるような感染症を早期に対応できることを目的とした。また、収束に向かっているとは言え新型コロナの動向は今だ重要であり、そのために血漿分画製剤を製造するプール血漿を用いて新型コロナウイルスの抗体価の推移やバルボウイルス B 19 のウイルス量や抗体価を検索した。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か検討した。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。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感染系を開発した。これらから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した。

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鳥類の大量死や献血者からウスツウイルス (USUV) が確認されている。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ており、今回、2 種のウイルス株の病原性をマウスを用いて解析した。2 種のウイルスとも脳内接種では死亡や症状が確認できたが、腹腔内投与では認められなかった。また、世界各地から

蚊媒介ウイルスの流行状況の情報を集めたところ、東南アジアでのデングウイルス感染が非常に多かった。蚊媒介ウイルスのウイルス血症の期間は10日であることから帰国者からの献血では予防できるが、蚊を媒介する二次感染の可能性はある。

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、スパイクタンパクに対する抗体価は、接種によって上昇するが、その後、維持できず減少するウェーブ様のトレンドが観察された。

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。SARS-CoV-2 (オリジナル株、アルファ株、オミクロン株) よりスパイクタンパク遺伝子をクローニングし、野生型 VSV の G タンパク遺伝子と置換した組換えウイルスを作成したが、ウイルス産生は認められなかった。これは、スパイクタンパク質に存在する ER retention signal のためと考えた。そこで C 末の 18 アミノ酸を欠損させたスパイクタンパク質を発現させ、ウイルスが産生されるか検討している。

4) HBV等培養が困難なウイルスの培養法の改良と法の開発と不活化の評価

HBs-RNA 定量による感染性評価法を用い界面活性剤 (S/D) 処理による不活法の効果を検討した。1 時間では感染性は残存することもあったが、3 時間処理ではいずれも検出感度以下になるまで不活化された。HBV のモデルウイルスである仮性狂犬病ウイルスも同様な挙動をとった。また、感染後の HBs-RNA の挙動を解析したところ、感染 4 日頃より急速に転写量が増加し、11 日前後でピークになることが明らかとなった。そこで 60 度-10 時間液状加熱したアルブミン製剤での不活化を継続的な HBs-RNA 量で検討したところ、HBs-

RNA は検出されるも増加は認められず不活化されていたと考えられた。また、培養法を変更し、感染 2 日までポリエチレングリコールを添加しない培養液を用いることで非特異的に細胞に HBV が吸着を阻害することができた。

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Mポックスウイルス

MPXV_JPN2022_YK006 クレード2b

（2022年に日本で分離された）に加え、病原性の強いMPXV/Zr599クレード1aと、MPXV_Liberia クレード 2a を加えて、PBS 下、およびウイルスを安定化する蛋白共存下（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。また、低 pH 処理への感受性についても比較し、15 分の処理でいずれのウイルスも検出限界以下となり、5log 以上の不活化が認められた。

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。特に新型コロナウイルスの感染の収束に伴う国際的な人的交流の活性化によって世界各地でデングウイルスの流行が発生している。また、エムポックス(Mpox)の流行では世界的な流行は収束に向かっている傾向にあるが、アジアでの感染者数の増加が報告されている。発症者の血液中から Mpox-DNA が検出されたとの報告があるが、発症前の供血者由来の血小板（核酸陽性）輸血症例が報告されている。幸い感染は生じなかったが潜伏期の血中にウイルスが混入する可能性がある。そこで国内で市販されている 5 つの核酸検出キットの感度の評価を行ったが、良好な感度を有していることが確認できた。

D. 考察

新型コロナウイルス感染症の収束に伴い開発途上国を中心に新興・再興が流行している。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。また、パルボウイルスの研究では、抗体価と混入するパルボウイルス量を原料血漿プールや免疫グロブリン製剤で解析し、抗原スクリーニングをすり抜けたウイルスは抗体によって十分に不活化できること明らかにした。これはスクリーニング検査として NAT を導入しなくても血漿分画製剤のパルボウイルスに対する安全性は十分に確保されていることを示している。また、HBV の *in vitro* 感染系と感染検出系の改良によって液状加熱や界面活性剤による不活化の評価が可能にした。

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、献血由来原料血漿プールを用いた抗体の解析、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. 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72回日本輸血・細胞治療学会総会, 千葉, 2023

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72回日本輸血・細胞治療学会総会, 千葉, 2023 著書

岡田義昭：血液製剤から見たプリオン バムサジャーナル 35 (3) 144-151, 2023

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

献血血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解析

研究分担者	国立感染症研究所	ウイルス第一部	林 昌宏
研究協力者	国立感染症研究所	ウイルス第一部	西山 祥子
	国立感染症研究所	ウイルス第一部	田島 茂
	国立感染症研究所	ウイルス第一部	海老原秀喜

研究要旨 輸血用血液製剤の安全性に関わる節足動物媒介性ウイルスの流行地においては、これらウイルスによる輸血感染症が問題となっている。そこで節足動物媒介性ウイルスによる輸血感染症の事例について文献探索を行いその実態を調査した。その結果、輸血によるデングウイルス感染例および血小板輸血によるジカウイルスの報告例を確認した。ところで、近年ヨーロッパではウスツウイルスが流行しており、献血血からもウイルス遺伝子が検出されている。そこで我々はウスツウイルスの検出系を検討するために、その病原性をC3H/Heマウスを用いて検討した。その結果ウスツウイルスは脳内接種において毒性を示したが、腹腔内接種においては病原性を示さなかった。今後さらにウスツウイルスの性状解析を進める必要が示された。

A. 研究目的

輸血によるウイルス感染症の原因として、ドナーが献血血スクリーニング検査の実施されていないウイルスに感染しており、かつ不顕性感染である場合が挙げられる。節足動物媒介性ウイルス（アルボウイルス）は、不顕性例が多いこと、ウイルス血症が疾病の発症に先行することから、献血血が感染源となる可能性がこれまでも報告されてきた。わが国において輸血による感染が確認された症例中にアルボウイルス感染症は含まれていないが、海外ではデングウイルス（DENV）、チクングニアウイルス（CHIKV）、ウエストナイルウイルス（WNV）、ジカウイルス（ZIKV）等の輸血感染例が報告されている。近年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おり、わが国においてもDEN熱の輸入症例はコロナ禍後再び増加傾向にある。ところで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。USUVはフラビウイルス科に分類される一本鎖（+）RNAウイルスであり、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た。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。USUVのヒトに対する病原性は高くないが、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ている。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WNVの核酸増幅検査（NAT）検査において、USUV遺伝子が検出されている。したがって献血血におけるアルボウイルスの検出事例と輸血によるレシピエントへの臨床的影響に関するデータの収集は献血血の安全確保において重要である。これまでにわれわれは、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。

そこで本研究ではUSUVの性状を解析し、検査系を評価するための動物モデルの開発を行う。また、アルボウイルスの輸血リスクを分析するためにDENV、CHIKV、ZIKV等のアルボウイルスによる輸血感染症の事例について文献探索を行いその実態を調査する。

B. 研究方法 ウイルスの準備

サル腎細胞由来Vero細胞を 2×10^5 /mlで播種し、5%CO₂、37°Cで培養した。翌日、SAAR-1776株およびKo208/2018株をそれぞれmoi 0.01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。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。

マウス

一群 5 匹の 3 週齢 C3H/He マウスに対して USUV SAAR-1776 株および Ko208/2018 株 (10^1 PFU/ml) をそれぞれ $20\ \mu\text{l}$ 脳内接種した。また同様に 3 週齢 C3H/He マウスに対して SAAR-1776 株および Ko208/2018 株 (10^6 PFU/ml) をそれぞれ $100\ \mu\text{l}$ 腹腔内接種した。ウイルス接種を行なったマウスを 21 日間観察した。

節足動物媒介性ウイルスによる輸血感染症の事例の文献調査

過去 20 年間に報告された節足動物媒介性ウイルスによる輸血感染の事例について PubMed を用いて文献調査を行なった。

(倫理面への配慮) 本研究で実施した研究は国立感染症研究所動物実験委員会の承認を得て実施した。

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 SAAR-1776 株および Ko208/2018 株をそれぞれ moi 0.01 接種した。細胞を顕微鏡下で毎日観察し、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。

マウスのウスツウウイルス感受性

一群 5 匹の 3 週齢 C3H/He マウスに対して SAAR-1776 株および Ko208/2018 株 (10^1 PFU/ml) をそれぞれ $20\ \mu\text{l}$ 脳内接種した。その結果接種 14 日以内に Ko208/2018 株では 3 匹のマウスが死亡し、SAAR-1776 株では 1 匹のマウスが死亡した。しかしながら SAAR-1776 株および Ko208/2018 株 (10^6 PFU/ml) をそれぞれ $100\ \mu\text{l}$ 腹腔内接種したマウスにおいては、21 日の観察期間中、ウイルス感染による症状を示した個体あるいは死亡した個体は認められなかった。

節足動物媒介性ウイルスによる輸血感染症の事例の文献調査

過去 20 年間に報告された節足動物媒介性ウイルスによる主な献血血の汚染例および輸血による感染例について PubMed を活用して文献調査を行なった。その結果 2005 年にレユニオン島において献血血より CHIKV RNA が検出された事例の報告があった。その他にも 2005 年にプエルトリコの献血血より DENV RNA が検出、2009 年

にタイの献血血より CHIKV RNA の検出、2012 年にはブラジルの献血血より DENV RNA が検出された事例報告があった。2013-2015 年にかけてのフランス領ポリネシアで行われた調査では 2.8% が ZIKV RNA 陽性であった。プエルトリコにおける 2014 年の調査では、1.9% が CHIKV 陽性であった。2017 年の報告ではサウジアラビアのドナーの 5.5% が DENV RNA 陽性であった。2018-2020 年にブラジル北部で行われた調査では、献血血 36,133,000 件のうちアルボウイルスが検出されたケースは、DENV 陽性および CHIKV 陽性それぞれ 1 件であった (陽性率 0.002%)。さらに輸血による感染事例として、2012 年にブラジルにおいて少なくとも 5 例の輸血による DENV の感染例が発生した。また 2016 年にはブラジルにおいて 2 例の血小板輸血による ZIKV 感染例も報告されている。DENV, CHIKV, ZIKV はヒトにおいて高いウイルス血症を示すため、献血血を介してヒトに感染する事例が報告されている。したがって今後もこれら事例について情報収集が必要であることが示された。

D. 考察

血液製剤の安全性を確保するうえで問題となっているアルボウイルスには DENV, CHIKV, WNV, USUV, ZIKV 等がある。近年デング熱の流行が世界的に拡大しており、2023 年の東南アジアにおけるデング熱の患者数は、ベトナム 166,619 人 (死者 42 名)、フィリピン 195,603 人 (死者 657 名)、マレーシア 120,418 人 (死者 96 名)、シンガポール 9,663 人、ラオス 31,997 人 (死者 20 名)、カンボジア 31,567 人 (死者 39 名)、タイ 158,705 人 (死者 181 名) であった。コロナ禍による世界的な移動制限が 2022 年に解除され、ヒトの交流が再開されると、再びわが国におけるデング熱輸入症例の増加が認められた。したがって DENV をはじめとしたアルボウイルス感染症に対する情報収集と検査体制の強化が重要である。

本研究においては、献血血から検出されたアルボウイルスの情報について文献調査を行い、アルボウイルスの流行地域では献血血からアルボウイルスが検出された事例がいくつか報告されていることを確認した。例えば 2005 年にフランス海外島のレユニオン島での CHIK 熱流行時には献血血より CHIKV が検出されており、2016 年のブラジルにおける ZIKV 感染症流行時には ZIKV の血小板輸血を介した感染例が報告されている。また近年のブラジルでの DEN 熱および CHIK 熱の流行においても献血血

よりそれぞれのウイルスが検出されている。わが国においては、海外からの帰国日（入国日）当日から4週間以内の献血は、基本的に実施されておらず、これらアルボウイルスのウイルス血症の期間は長くて10日ほどであるとされているため、直ちにアルボウイルスによる献血血へのリスクがあるわけではない。しかしながら、2016年および2019年にはDEN熱の国内流行も発生しており、引き続きその情報収集と検査体制の整備することにより、アルボウイルスの国内流行に備えることが求められる。

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。本研究においてEVE-gより導入した2株のUSUVのうち、SAAR-1776株は、1959年に南アフリカで分離されたレファレンス株であり、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ウイルス株である。これら2株の病原性についてマウスを用いて検討したところ、脳内接種により病原性を示したが、腹腔内接種においては病原性を示した個体は観察されないことが示された。USUVの体内動態モデルを構築し、検査系の評価を実施するため、引き続きその開発を実施する必要がある。

E. 結論

これまでに報告された献血血からのアルボウイルスの検出に対する調査を行い、アルボウイルスの流行においては、献血血においてアルボウイルスが検出される事例が報告されていることが示された。したがって、血液製剤の安全性を確保するためには、今後もこれら情報を収集する必要性が示された。また今後もアルボウイルスの動向に注視するとともに、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

1. 特記事項なし

学会発表

1. 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

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

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 室長）

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]

本邦献血者を由来とするプール血漿中には、献血者集団の感染症既往歴やワクチン接種歴を反映した抗体を含むことから、各種病原体等に対する血清疫学の概観を把握する一助となる。さらに、対象病原体等に対する中和活性を評価することにより、プール血漿の安全性に寄与し得るかどうか、考察も可能である。本研究では、プール血漿中のヒトパルボウイルス B19（以下、B19）と SARS-CoV-2 に対する抗体価を評価した。

2021 年 4 月～2022 年 3 月の短期間に採血したプール血漿について、抗 B19 抗体価を測定した。より長期（2011 年～2015 年および 2022 年）の抗体価推移については、この期間に製造されたグロブリン製剤の測定値から試算した。その結果、抗 B19 抗体価（結合抗体価および中和抗体価）の数値は、これらの期間ほとんど変化せず、プール血漿中の中和抗体価は FDA 基準である $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ の B19 を、十分なマージンをもって中和し得ると考えられた。また、B19 の流行期に関わらず、プール血漿中の B19 DNA 量は $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ 未満であったことから、プール血漿中の抗 B19 中和抗体は、プール血漿の B19 に対する安全性に寄与すると判断した。

SARS-CoV-2 については、前年度に引き続き、プール血漿中の抗 SARS-CoV-2 抗体価をモニタリングした。その結果、スパイクプロテインに対する結合抗体価は、ワクチン接種数や流行に応じて上昇するものの、抗体価を維持できず、暫時下降するウェーブ状の傾向が観察された。中和抗体価については、流行第 6 波（2022 年 1～3 月）以降から徐々に上昇し、第 7 波（2022 年 7～9 月）以降、さらなる上昇が観察された。

SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 qPCR: quantitative PCR

coronavirus 2

B19: Human parvovirus B19

TCID50: 50% Tissue Culture Infectious Dose

EIA: Enzyme ImmunoAssay

A. 研究目的

血清学・核酸の各種検査により、感染リスクのある単一ドナーの献血血液は予め排除されているが、検出限界値未満の病原体等が存在する、あるいは検査対象となっていない病原体等が存在する可能性は否定できない。しかし、数千人以上の本邦献血者血漿を集合したプール血漿中では、献血者の感染症の既往歴やワクチン接種歴を反映した多様な抗体が含まれる。これら抗体の中には、病原体等の抗原と結合することにより、感染症の発症を阻害する中和抗体も含まれる。すなわち、本邦献血由来のプール血漿（もしくはその分画産物であるグロブリン製剤）中の中和活性を評価することにより、対象となる病原体等に対する安全性の考察が可能となる。

加えて、中和活性の結果から、本邦献血者における各種病原体等に対する血清疫学の概観についても把握が可能となる。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 2024 年 3 月時点でも完全には収束していない。このようなパンデミックが発生すると、病原体等によっては、その影響が数年にわたって続く場合がある。この期間中の対象病原体等に対する中和抗体価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が可能である。本分担研究では、血液製剤の安全性考察と血清疫学の概観把握を目的として、プール血漿中の B19 と SARS-CoV-2 に対する結合・中和活性を評価した。

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⁾。輸血による感染事例も報告されており²⁾、血液製剤の安全性確保の観点から、注視する必要があるウイルス

の一つである。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⁾、 $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ を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、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⁾。実際に、池川らは血漿分画製剤のプール血漿中の核酸検査を行い、ウイルス量が FDA 勧告基準を下回っていたことを報告した⁶⁾。また前年度には、プール血漿中の中和抗体価が、FDA 勧告基準量の B19 を中和するのに十分であることを報告した⁷⁾。そこで本年度は、プール血漿中の中和抗体価が短長期的に維持されているかどうか評価するとともに、過去の報告⁶⁾以降も、プール血漿中の B19 DNA 量が FDA 基準未満だったかどうか調査した。

SARS-CoV-2 については、前年度に 2021 年 2 月から 2022 年 5 月に採血されたプール血漿中の結合・中和抗体価のモニタリングを実施した⁷⁾。スパイクプロテインに対する結合抗体価は、ワクチン接種に追従して上昇するものの一旦下降し、その後の追加ワクチン接種に応じて再上昇していた。また、中和抗体価については、2022 年 3 月頃から各種オミクロン株に対する抗体価が上昇することを捉えた。本年度も、このモニタリングを継続し 2022 年 5 月以降のワクチン接種およびコロナ流行がプール血漿中の結合抗体価と中和抗体価に与える影響を評価した。

B. 研究方法

1. ウイルス

$12.2 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ 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、プール血漿

およびグロブリン製剤中の中和抗体価の評価に用いた。

各種 SARS-CoV-2 株については以下を用いてプール血漿中の中和抗体価を評価した

起源株 (2019-nCoV/Japan/TY/WK-521/2020)

デルタ株 (hCoV-19/Japan/RIMD-DVI-16/2021)

以下オミクロン株

BA.1 株 (hCoV-19/Japan/TY38-873/2021)

BA.2 株 (hCoV-19/Japan/TY40-385/2022)

BA.5 株 (hCoV-19/Japan/TY41-702/2022)

XBB 株 (hCoV-19/Japan/TY41-795/2022)

2. B19 に対する中和活性の定量法

過去に報告した方法⁸⁾に基づき、次のように評価した。プール血漿を抗 B19 抗体陰性ヒト血漿で希釈し、2 倍希釈系列の測定用サンプルを調製した。グロブリン製剤は、プール血漿と IgG 濃度を揃えるため、PBS で IgG 濃度 1% に希釈したサンプルの 2 倍希釈系列を測定用サンプルとした。12.2 Log₁₀ IU/mL の B19 を含む陽性血清を抗 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、抗体価測定用の B19 サンプルを調製した。プール血漿およびグロブリン製剤の 2 倍希釈系列サンプルと測定用の 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 ウェルプレートに予め播種された 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。本研究では、各希釈系列につき 3 回測定を実施し Karber 法により、50% の確率で B19 の感染を阻害する希釈倍

数を算出し、中和抗体価とした。

3. プール血漿およびグロブリン製剤中の抗 B19 結合抗体の測定

プール血漿およびグロブリン製剤 (IgG 濃度 1% に調整) 中の抗 B19 結合抗体は、過去の文献報告⁹⁾に基づき、抗 B19 抗体検査用 EIA キット (ウイルス抗体 EIA「生研」パルボ IgG、デンカ株式会社) と、WHO 国際標準品である抗 B19 抗体陽性ヒト血漿 (01/602、NIBSC) を用いて測定した。キットで取得された測定値は、標準品を用いてあらかじめ作成した検量線をもとに国際単位 (IU/mL) に換算し、結合抗体価とした。

4. 疫学背景とプール血漿中の B19 DNA 量の相関調査

伝染性紅斑については、国立感染症研究所より公表されている感染症発生動向調査事業年報¹⁰⁾および速報の表における伝染性紅斑の週別報告総数を参照し、グラフを作成した。プール血漿中の B19 DNA 量は過去の報告⁶⁾に基づき、一般社団法人 日本血液製剤機構で実施しているプール血漿の検査記録からプロットを作成し、前述の報告総数グラフに重ね合わせた。

5. プール血漿中の SARS-CoV-2 抗原に対する結合抗体の測定

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 2023 年 4 月頃までに採血されたプール血漿中の 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)

を用いて測定した。

6. SARS-CoV-2 各種株に対する中和活性の定量法

プール血漿を細胞用培地で段階希釈した 2 倍希釈系列サンプルと、100 TCID₅₀ / 50 μL の濃度に調整した 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。予め 96 ウェルプレートに播種された Vero-E6 細胞に、30 μL/well の混合液を添加した。起源株とデルタ株を評価する際は 37°C で 2 日間、オミクロン株を評価する際は 37°C で 3 日間培養した。培養後、感染成立または不成立を判断し、感染不成立を示すウェルの割合が 50% 以上となった希釈倍数の内、最大の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. 短期的なプール血漿中の抗 B19 中和抗体価および結合抗体価の推移評価

短期的なプール血漿中の B19 に対する中和抗体価および結合抗体価の推移を評価するため、2021 年度の各月内に採血したプール血漿を用いた。短期において、サンプル間の中和抗体価 (図 1) および結合抗体価 (図 2) の差は小さく、共に平均値および中央値の ±1 管差以内で推移していた。

2. 長期的なグロブリン製剤中の抗 B19 中和抗体価および結合抗体価の推移評価

プール血漿中の IgG 濃度が 1% に相当することから、

長期的な評価のため、プール血漿の代替として IgG 濃度を 1% に調整したグロブリン製剤 (2011 年～2015 年および 2022 年製造) を用いた。長期においても、サンプル間の中和抗体価 (図 3) および結合抗体価 (図 4) の差は小さく、共に中央値の ±1 管差以内で推移していた。

3. 伝染性紅斑報告総数とプール血漿中の B19 DNA 量の相関調査

B19 の疫学状況とプール血漿中の B19 DNA 量との相関があるかどうか調査するため、国立感染症研究所が公表している伝染性紅斑報告総数データ (2011 年 1 月～2023 年 6 月) と、プール血漿中の B19 DNA 量 (2011 年 1 月～2023 年 6 月製造) を比較した (図 5)。過去に報告したように⁶⁾、プール血漿中の B19 DNA 量は、伝染性紅斑報告総数の増加すなわち B19 流行期に準じて増加していた。また、2020 年コロナ禍以降、伝染性紅斑報告総数が減少しており、これと一致してプール血漿中の B19 DNA 量は検出限界未満となるロットが大半であった。なお、本調査期間 (2011 年 1 月～2023 年 6 月) において、B19 流行期に準じてプール血漿中の B19 DNA 量が上昇するものの、その数値は FDA 勧告基準の 4 Log₁₀ IU/mL 未満であった。

4. プール血漿中の SARS-CoV-2 結合抗体価

2021 年の 1 月頃から 2023 年 4 月頃までに採血されたプール血漿中の 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 (図 6)。スパイクプロテインに対する結合抗体価はワクチン接種数の増加に応じて、2021 年 8 月頃から顕著に上昇するものの抗体価を維持できず減少に

転じた。その後、ワクチン接種数の増加に応じて、2022 年 2 月頃から上昇し、2022 年 5 月頃ピークに達した後、減少に転じた。その後の 2022 年 8 月以降は、ワクチン接種数および流行に応じて上昇し、2023 年 2 月頃ピークに達した後、減少に転じた。一方、ヌクレオキャプシドに対する結合抗体価は、全評価期間で陽性の判断基準値 (30 BAU/mL 以上) より低かった。

5. プール血漿中の各種 SARS-CoV-2 株に対する中和抗体価

プール血漿代表ロット中の各種 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 (図 7)。2022 年の第 6 波 (1-3 月) 以降に採血された血漿から、中和抗体価が上昇し、第 7 波 (7-9 月) 流行によりさらに増加した。中和抗体価の上昇は株により違いがあり、起源株 / デルタ株、BA.1 株 / BA.5 株、BA.2 株、XBB 株の順であった。

D. 考察

本邦献血由来のプール血漿が B19 に対する FDA 勧告基準を満たすこと^{5,6)}とともに、血漿分画製剤の製造工程に導入されるウイルス除去・不活化工程が B19 に対して有効に機能することも報告されている^{8,11-13)}。しかしながら、FDA 勧告基準⁴⁾は、海外において界面活性剤処理された血漿を投与後、感染が成立しなかった B19 DNA 量に基づいており³⁾、本邦の献血に由来するプール血漿中の B19 に対する中和活性は反映されていない。本研究では、前年度で確立した中和抗体価測定系を用いてプール血漿およびグロブリン製剤中の中和抗体価について、抗体検査キットと国際標準品を用いて結合抗体価について、短長期的な推移を各々評価した。また、B19 疫学背

景とプール血漿中の B19 DNA 量の推移および相関性を調査した。

短長期的な推移評価において、中和抗体価は平均値・中央値から一定の範囲内で安定していたことから、プール血漿中の抗 B19 中和抗体価は安定していることが推測された。結合抗体価についても安定していたことから、抗 B19 抗体価が一定の数値を維持していることが裏付けられた。

疫学状況と B19 DNA 量の相関調査では、伝染性紅斑報告総数の増加に追従して、プール血漿中の B19 DNA 量も増加していた。両者間の時間差には、採血からプール血漿製造までのリードタイムが含まれることが考えられた。一方、2020 年コロナ禍以降は、前回の B19 流行期 (2019 年頃) から B19 流行周期である約 4 年が経過した 2023 年 6 月末時点でも、伝染性紅斑報告総数および B19 DNA 量の増加は認められなかった。評価対象期間 (2011 年 1 月～2023 年 6 月) 中の流行期においても、プール血漿中の B19 DNA 量が、FDA 勧告基準の $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ 未満に留まっていたことから、今後もプール血漿中の B19 DNA 量が $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ 未満を維持することが予測された。

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は、ワクチン接種数や流行に応じて上昇するものの、抗体価を維持できず、暫時下降するウェーブ状の傾向が観察された。2021 年 8 月頃の抗体価の上昇は、主にワクチン接種した献血者に起因すると推測された一方で、オミクロン株が出現・流行した 2022 年 2-3 月以降は SARS-CoV-2 に自然感染した献血者に由来する抗体も含まれると推測された。この推測を裏付けるように、自然感染のみに由来するヌクレオキャプシドに対する結合抗体価は陰性の範囲内であるものの、2022 年以降上昇傾向が継続

していた。なお、本研究の結合抗体価測定に用いたヌクレオキャプシド抗原は起源株をもとにしており、各種オミクロン株の自然感染により誘導される抗体に対する親和性が低い可能性がある。そのため、自然感染者が増加したオミクロン株流行後においても、ヌクレオキャプシドの結合抗体価が低値で推移した原因と考えられた。

プール血漿中の SARS-CoV-2 の各種変異株に対する中和抗体価を測定した結果、変異株間で中和抗体価の差が観察された。2021 年に接種されたワクチンは起源株に基づくことと一致して、起源株とデルタ株に対する中和抗体価の上昇は他の変異株と比較して高かった。BA.1 株については第 6 波以降、BA.5 株については第 7 波以降に顕著に増加していることから、各変異株の自然感染者に由来する可能性が高いと考えられた。一方で、mRNA ワクチンで誘導される抗体は BA.1 株と BA.2 株に対し同程度の中和活性を示すと報告¹⁴⁾されたものの、BA.2 株に対する中和抗体は低値のままであり正確な理由は不明である。また、BA.2 株から派生した XBB 株に対してもプール血漿中の中和活性は、ほとんど観察されなかった。なお、評価対象としたプール血漿の採血期間は XBB 株の流行前であったことから、モニタリングを継続することで BA.2 株及びその派生株に対する血清疫学についても把握できると考えられた。

E. 結論

B19 については、前年度での *in vitro* 中和抗体価測定系において、プール血漿中には $8.2 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ の B19 の感染性を十分消失させうだけの中和抗体が含まれることを報告した。本年度では、さらに、短長期にわたってプール血漿中の中和抗体価および結合抗体価が安定していることを確認した。また、プー

ル血漿中の B19 DNA 量が B19 疫学状況に関わらず、FDA 勧告基準の $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ 未満を維持していることも確認した。以上の結果より、プール血漿中に迷入する可能性のある B19 は、中和抗体によって実質的に感染性を消失した状態で存在しており、プール血漿中の B19 に対する安全性に寄与していると考えられた。

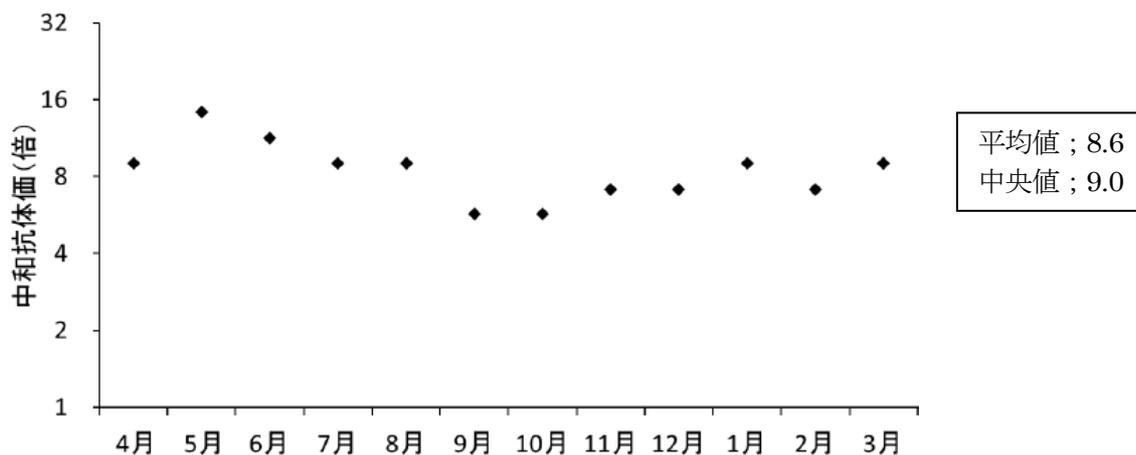
SARS-CoV-2 については、プール血漿中のスパイクプロテインに対する結合抗体価は、ワクチン接種や流行に応じて上昇するものの、抗体価を維持できず、暫時下降するウェーブ状の傾向が観察された。このトレンドは継続するのか、あるいは継続せずに一定値に収束していくのか、現段階では不明である。また、中和活性については、XBB 株の流行やオミクロン株対応ワクチン接種が反映され、血清疫学が変化する可能性があることから、モニタリングを継続することは重要であると考えられた。

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. 1-4: 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.*, Parvovirus B19: implications for transfusion medicine. 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/media/72156/download>
- 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

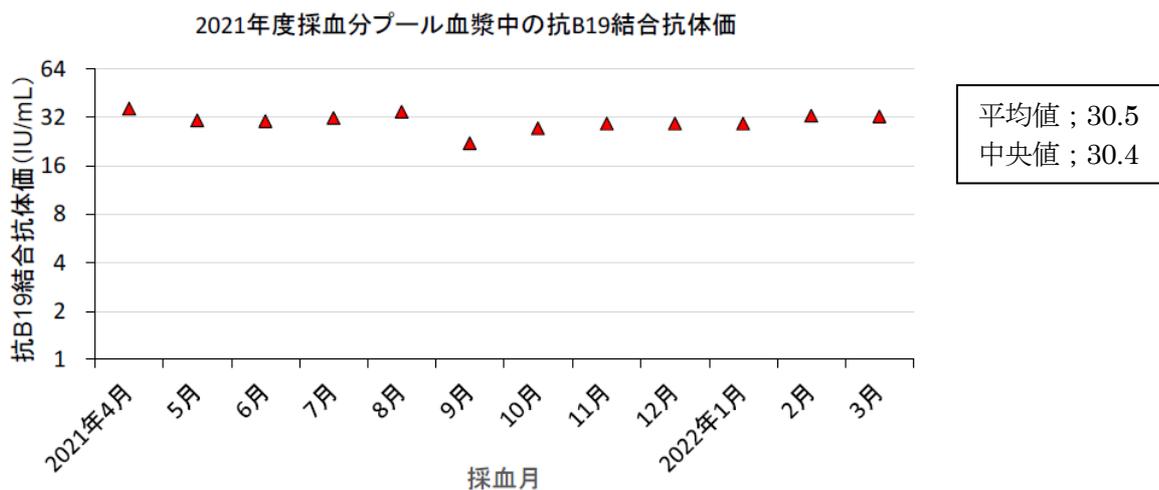
- ーニングの遺伝子型検出に関する性能評価」
Japanese Journal of Transfusion and Cell Therapy, Vol. 67. No. 1 67 (1) : 21–26, 2021
- 6) Ikegawa M *et al.*, Screening for parvovirus B19 antigen through chemiluminescent enzyme immunoassay is equivalent to B19 nucleic acid amplification test-based screening of pooled plasma. *Transfusion*. 2021 Aug;61(8):2240-2244.
- 7) 浦山ら「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」厚生労働科学研究, 令和 4 (2022) 年度総括, 分担研究報告書, 文献番号; 202225012A, https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/202225012A-buntan2.pdf
- 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) 庵原ら「各種ウイルス抗体価の互換性およびガンマグロブリン中のウイルス抗体価の検討ーパルボウイルス B19 に対する抗体価の検討ー」厚生労働科学研究, 平成 23 (2011) 年度総括, 分担研究報告書, 文献番号; 201132031A, p27-31, <https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/2011/114041/201132031A/201132031A0002.pdf>
- 10) 感染症発生動向調査事業年報 (IDWR), 2021 年 (令和 3 年) 確定報告データ, 集計表一覧, 第 22-3 表: 報告数・定点当たり報告数, 経年・性別・週・週報定点把握対象疾患別, 2023 年 2 月 3 日
https://www.niid.go.jp/niid/images/idwr/ydata/2021/Syuukei/Syu_22_3.xlsx
- 11) 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.
- 12) 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
- 13) 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.
- 14) Uraki R *et al.*, Characterization and antiviral susceptibility of SARS-CoV-2 Omicron/BA.2. *Nature*. 2022 Jul 16;607(7917):119-127
- 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、瀨瀬 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 2 報)
第 64 回日本臨床ウイルス学会 (2023 年 10 月)、静岡

井上 隆昌、西口 優吾、澁谷 明美、柚木幹弘、浦山 健
ヒトパルボウイルス B19 に対する本邦献血プール血漿の血清疫学的評価と安全性の考察
第 64 回日本臨床ウイルス学会 (2023 年 10 月)、静岡
- 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



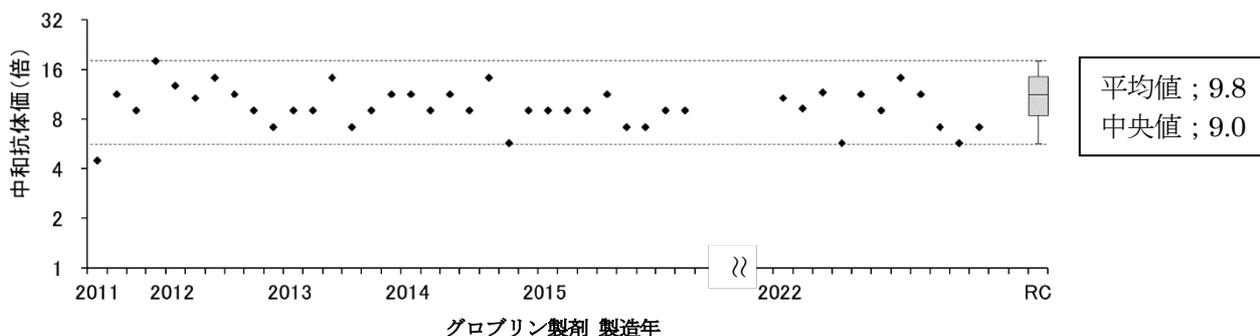
<図 1> プール血漿中の抗 B19 中和抗体価の推移評価
(2021 年 4 月～2022 年 3 月採血)

2021 年度の月毎に採血されたプール血漿の中和抗体価を対数軸で示した。構成する個別血漿の採血期間が各月内に収まるプール血漿を、各月のプール血漿として用いた。縦軸に中和抗体価 (倍) を、横軸に各採血月を表示した。



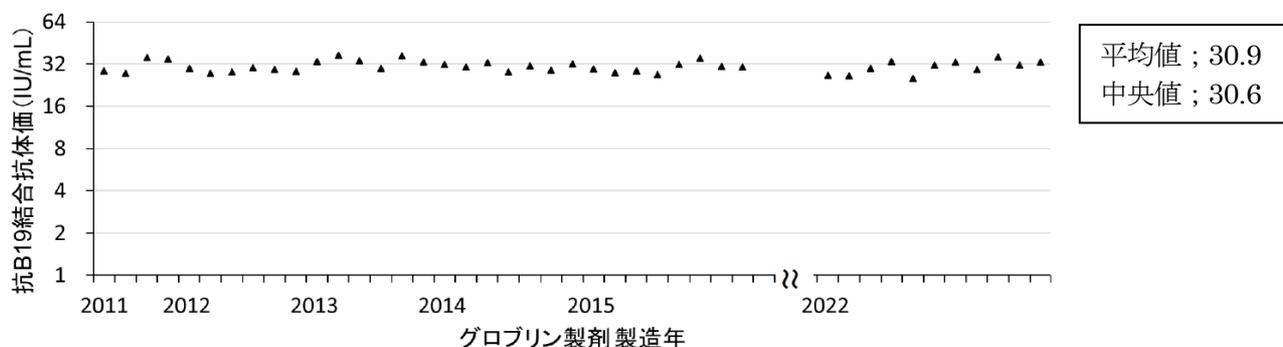
<図 2> プール血漿中の抗 B19 結合抗体価の推移評価
(2021 年 4 月～2022 年 3 月採血)

2021 年度の月毎に採血されたプール血漿の結合抗体価を対数軸で示した。構成する個別血漿の採血期間が各月内に収まるプール血漿を、各月のプール血漿として用いた。縦軸に結合抗体価 (IU/mL) を、横軸に各採血月を表示した。



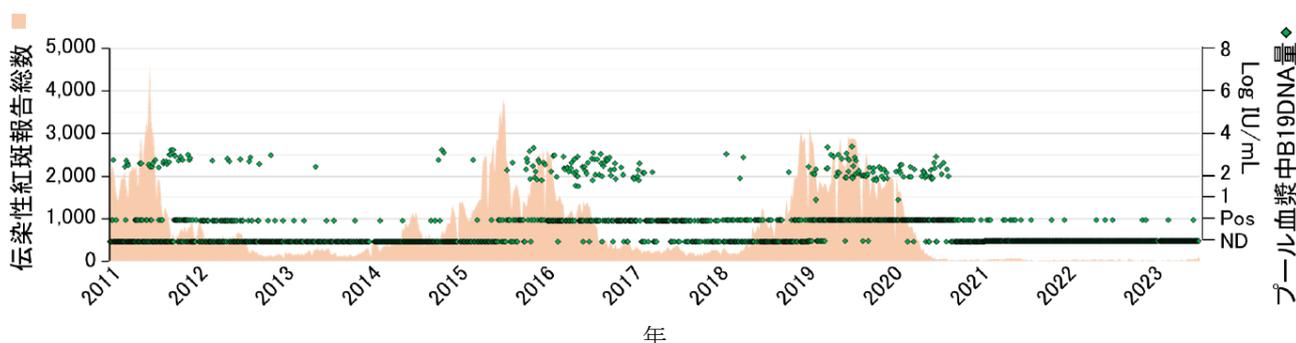
＜図 3＞ グロブリン製剤中 (IgG 濃度 1%) の抗 B19 中和抗体価の推移評価
(2011 年～2015 年及び 2022 年製造ロット)

2011 年～2015 及び 2022 年に製造されたグロブリン製剤 (IgG 濃度 1%) の中和抗体価を対数軸で示した。各年に製造されたグロブリン製剤を、ロット順に表示した。縦軸に中和抗体価 (倍) を、横軸に各製造年を表示した。また、測定毎に試験成立の判断基準となるコントロールサンプル (RC) を併せて測定し、測定間の差の範囲を点線で表示し、点線で挟まれた範囲内であれば同程度の抗体価と判断した。RC : Run Control (n=24 回反復測定)



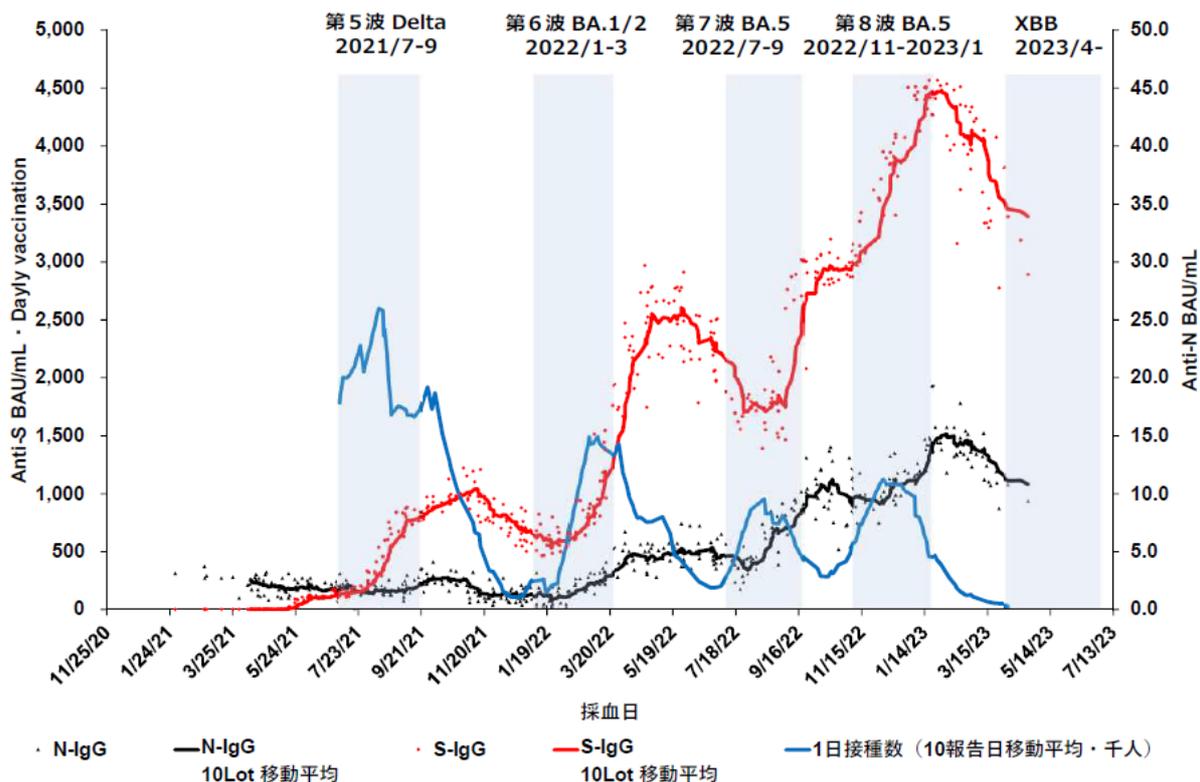
＜図 4＞ グロブリン製剤中 (IgG 濃度 1%) の抗 B19 結合抗体価の推移評価
(2011 年～2015 年及び 2022 年製造ロット)

2011 年～2015 及び 2022 年に製造されたグロブリン製剤 (IgG 濃度 1%) の結合抗体価を対数軸で示した。各年に製造されたグロブリン製剤を、ロット順に表示した。縦軸に中和抗体価 (倍) を、横軸に各製造年を表示した。



＜図 5＞ 伝染性紅斑の報告総数とプール血漿中の B19 DNA 量との経時的変遷

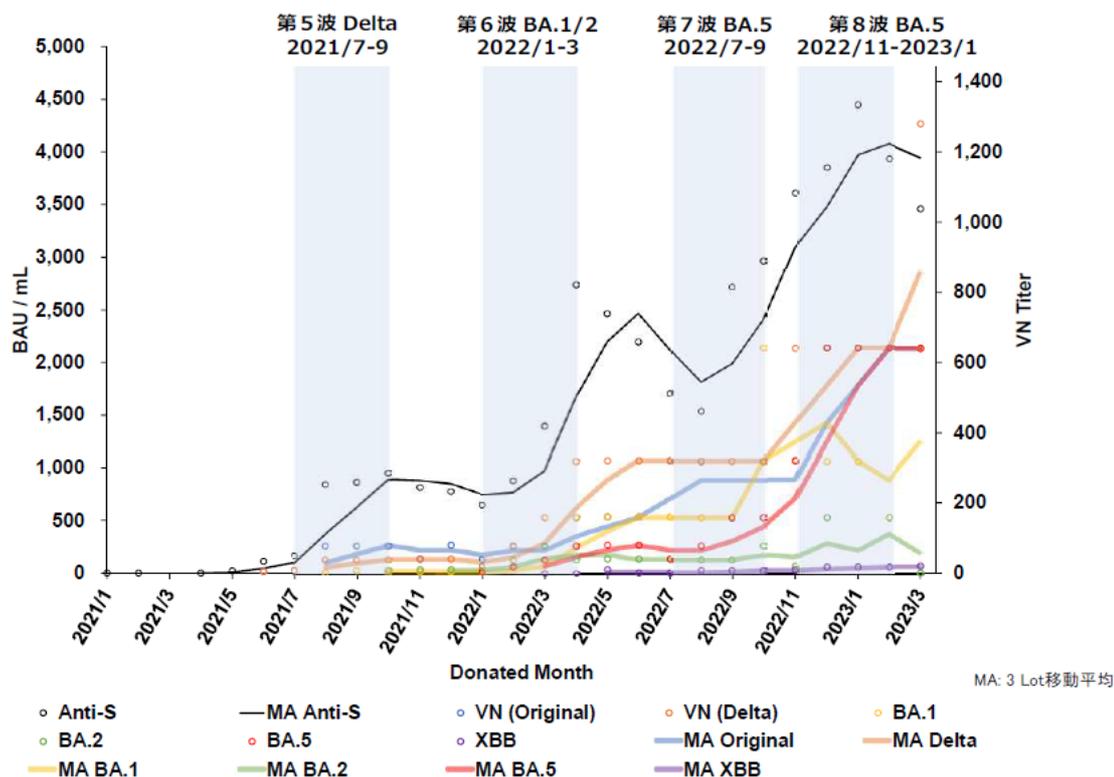
2011 年 1 月～2023 年 6 月の伝染性紅斑報告総数 (棒グラフ ; 橙色) と同時期に製造されたプール血漿中の B19 DNA 量 (菱形プロット ; 緑色) を示した。左縦軸に伝染性紅斑報告総数を、右縦軸にプール血漿中の B19 DNA 量 (Log₁₀ IU/mL) を、横軸に年 (報告総数 ; 報告週、B19 DNA 量 ; プール血漿製造年で各々対応) を表示した。ND ; 検出限界未満、Pos ; 定量限界以下



<図 6>

プール血漿中の SARS-CoV-2 スパイクプロテイン及びヌクレオキャプシドに対する
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プール血漿の採血日として、2021 年より経時的にプール血漿中の SARS-CoV-2 スパイクプロテイン及びヌクレオキャプシドに対する結合抗体を測定した。赤丸は抗 SARS-CoV-2 スパイクプロテイン IgG (S-IgG) の結合抗体価を示し、赤線は直近 10 ロットの移動平均線を示している。一方、黒三角が抗 SARS-CoV-2 ヌクレオキャプシド IgG (N-IgG) の結合抗体価を示し、黒線が直近 10 ロットの移動平均線を示している。結合抗体価 (BAU/mL) は左軸が S-IgG、右軸が N-IgG に各々対応している。なお、N-IgG の結合抗体価で 15 BAU/mL 未満は陰性判定である。青線は一日当たりの SARS-CoV-2 ワクチン接種者数を示しており、背景の薄青色部は新型コロナの各流行期を示している。



<図 7>

プール血漿中の SARS-CoV-2 各種株に対する中和抗体価の経時的変遷

図 6 で使用したプール血漿の代表ロット中の 6 種の SARS-CoV-2 株に対する中和抗体価を測定した。青丸が起源株、橙丸がデルタ株、黄丸が BA.1 株、緑丸が BA.2 株、赤丸が BA.5 株、紫丸が XBB 株に対する中和抗体価 (VN Titer) を示しており、右軸 (単位 ; 倍) に対応している。また、これら各株に対応した各色線は、直近 3 ロットの移動平均線を示している。

なお、黒丸および黒線は図 6 と同様、各々 S-IgG の結合抗体価、およびこれら直近 10 ロットの移動平均線を示しており、左軸 (単位 ; BAU/mL) に対応している。背景の薄青部もまた図 6 と同様、新型コロナウイルス流行期を示している。

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：わが国で製造される血液製剤は、抗体検査やNAT等極めて精度の高い方法によって病原体スクリーニングが実施され、その安全性が担保されてきた。しかし、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にはSARS-CoV-2に対する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、その安全性を評価する必要があるが、適切な評価系が十分ではない。そのような評価にはSARS-CoV-2の感染アッセイ系が必要となるが、SARS-CoV-2自身はBSL3の取り扱いが必要であり、使用に対する制限が非常に大きい。そこで本研究では、BSL2での実施が可能な抗ウイルス活性物質等の安全性評価系を構築し、血液製剤の安全性確保と安定供給に貢献することを目的に、BSL2での使用が可能な組換え水疱性口内炎ウイルス(VSV)を用いたSARS-CoV-2代理ウイルス感染系の構築を試みた。

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

わが国で製造される血液製剤は、抗体検査やNAT等極めて精度の高い方法によって病原体スクリーニングが実施され、その安全性が担保されてきた。しかし、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には病原体であるSARS-CoV-2に対する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、これらの安全性について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の感染アッセイ系が必要であるが、SARS-

CoV-2はBSL3レベルでの取り扱いが求められるため、生ウイルスの使用は容易ではない。そこで、BSL2/P2レベルでの取り扱いが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する。この代理ウイルス表面にはSARS-CoV-2スパイクタンパク質が発現しており、この代理ウイルスの*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。

B. 研究方法

・組換えVSV感染性クローンのプラスミドの作成

SARS-CoV-2（オリジナル株、アルファ株、オミクロン株）よりスパイクタンパク遺伝子をクローニングし、野生型VSVのGタンパ

ク遺伝子と置換した。

・組換えVSVの産生

293T細胞あるいはVeroE6/TMPRSS2細胞にT7発現ワクシニアウイルスを感染させたのち、組換えVSVプラスミドおよびVSV-N, P, G, L発現ヘルパープラスミドをトランスフェクションし、組換えVSVを含む上清を回収した。

・プラークアッセイ

VSVあるいはSARS-CoV-2を感染させた後、メチルセルロース含有培地を添加して2日間培養し、メタノール固定してクリスタルバイオレットで染色した。

C. 研究結果

SARS-CoV-2各株よりスパイクタンパク遺伝子をクローニングし、VSV感染性クローンプラスミドへのサブクローニングを行った。これらを用いて組換えVSV産生実験を施行したところ、対照の野生型VSVおよびEGFP発現組換えVSV(VSV-EGFP)に関してはVSV特有のコメットサインあるいはEGFP発現が目視あるいは蛍光顕微鏡で観察され、ウイルス産生が確認できた。(図1、図2)



図1.野生型VSV感染による

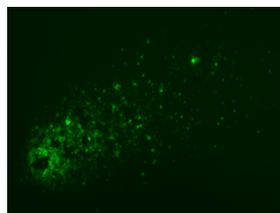


図2.VSV-EGFP 感染細胞に

SVに関してはウイルス産生が確認できなかった。この原因として、VSV粒子は細胞表面でエンベロープタンパク質を纏うが、SARS-CoV-2スパイクタンパク質のC末にER retention signalが存在するために、ウイルス粒子へのスパイクタンパク質の供給がうまくいかない可能性が考えられた。そこで、ER retention signal を含むC末の18アミノ酸を欠失したスパイクタンパク遺伝子をサブクローニングした。さらにウイルス感染を可視化し、観察を容易にするためにEGFP発現ユニットをスパイク発現組換えVSVプラスミドに組み込んだ。現在、ウイルス産生の可否を検討中である。

また、SARS-CoV-2各株のウイルスゲノムを回収するために、VeroE6/TMPRSS2細胞に感染させてウイルスを増幅させた。その際に、オリジナル株に比べてオミクロン株ではウイルス感染により生じるプラーク径が顕著に小さいことが明らかとなった。プラークが小さいことでプラーク数の計数が困難になるため、感染力価の測定に障害になると考えられた。プラーク形成は主にスパイクタンパク質により生じるため、スパイクタンパク質発現VSVでも同様の結果になると考えられる。そこで、プラークアッセイに用いるメチルセルロース(MC)を一般的に用いられるMC#4000から微結晶メチルセルロースAvicelに変更してプラークアッセイを行った。その結果、Avicel使用時にはオミクロン株によるプラーク径はより大きくなり、プラーク数もより多くなった。(図3)

しかし、スパイクタンパク質発現組換えV

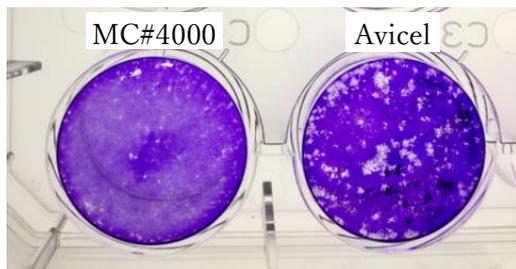


図3. SARS-CoV-2オミクロン株によるプラーク形成に対する

これにより、オミクロン株等の各種変異株でも安定的に感染力価を測定することができると考えられた。

D. 考察

VSVはスパイクタンパク質に相当するGタンパク質を細胞表面でウイルス粒子に取り込んだ後に細胞外へ放出されるが、SARS-CoV-2は主にER-Golgi周辺でウイルス粒子にスパイクタンパク質を取り込み、エクソサイトーシスにより細胞外へ放出される。従って、SARS-CoV-2スパイクタンパク質をVSV粒子により効率良く取り込ませるためには、スパイクタンパク質を細胞表面に発現させる必要がある。そのためスパイクタンパク質のC末に存在するER retention signalを欠失させることで、VSV粒子への取り込み効率が上がると考えられる。

SARS-CoV-2およびスパイクタンパク質発現組換えVSVは細胞変性効果(CPE)あるいは感染細胞死を観察することで感染を確認するが、EGFP発現組換えVSVを用いることでCPE等の細胞の変化が生じる以前からウイルス感染の存在を確認可能で、感染細胞死の誘導およびその広がりを観察できるようになる。

SARS-CoV-2オミクロン株が形成するプラークは非常に小さいため顕微鏡を用いて

も計数が困難であり、感染力価の測定が不安定であった。MCを変更することでプラークがより大きくなり、計数が容易となった。これによりオミクロン株を含む変異株でも感染力価を安定的に測定することができると考えられる。

E. 結論

SARS-CoV-2スパイクタンパク質を発現する組換えVSVを作成中である。尚、スパイクタンパク質全長にはC末にER retention signalが存在するため、細胞表面でエンベロープ(スパイク)を受け取るVSV粒子にスパイクタンパク質をより効率良く供給するために、ER retention signalを含む領域を欠失させたスパイクタンパク質を作成してVSVゲノムに組み込んだ。

また、SARS-CoV-2オミクロン株が形成するプラークは非常に小さいので、MCを変更することでプラークをより大きくし、感染力価の測定を安定化させた。

これらの改善により、VSVを用いたSARS-CoV-2代理ウイルス感染系が確立され、様々なSARS-CoV-2変異株においても、抗ウイルス活性物質を含む可能性のある血液について安全性を検証できるよう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クローン株# 4-11 を用いて今年度は、界面活性剤(S/D)処理による HBV の不活化効率の評価と昨年実施した液状加熱による不活化の評価をより正確に行なった。S/D 処理では 3 時間で検出感度以下に不活化された。これは HBV のモデルウイルスとして用いられている仮性狂犬病ウイルスと同等であった。また、感染後の HBs-RNA の転写量を継時的に測定したところ感染 4~5 日後より急速に増加し 10 日頃にピークになることが明らかになった。これを 60°C-10 時間液状加熱された検体の転写量に応用したところ増加は全く認められなかった。以上から液状加熱により約 3 log 以上不活化されたと考えられた。

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てきた。また、将来的に上記肝炎ウイルスに加えパルボウイルス B 19 ウイルス等も不活化等を評価するために高濃度の陽性血漿を必要量確保することは、倫理的に困難になると推定される。そこで

ウイルス学的進歩によって実験的に培養が可能になった HBV や HCV 陽性血漿を用いて血漿分画製剤の製造工程で使用されているウイルス不活化法の不活化効果を明らかにすると共に、これらのウイルスを *in vitro* で容易に増殖できる培養法も目指した。今年度は界面活性剤(S/D)処理による HBV の不活化の評価や液状加熱による不活化の評価をより正確に行なった。

B. 研究方法

1. 細胞株の培養

細胞株#4-11 は感染 1 日前に 1×10^5 ずつコーゲンコートした 24 穴プレートに蒔き、最終

濃度 2% の DMSO を添加した 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ある。Genotype は、A と C 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。

2. 界面活性剤(S/D)処理による HBV の不活化

5%アルブミン製剤で 10 倍希釈した HBV に最終濃度 1.0%、及び 0.3%となるように Tween80 と n-butylphosphate を添加し、添加直後、1 時間後、3 時間後に検体を採取した。直ちに段階希釈し、100 μL ずつ細胞に感染させた。感染 2 日目に細胞を PBS で 5 回洗浄し、2%DMSO と 4% ポリエチレングリコール (PEG:分子量 8000) を含む培養液で培養した。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交換した。感染 14 日後に細胞を回収した。

3. 感染後の HBs-RNA 転写量の継時的測定

約 1000 感染価と 100 感染価に希釈した HBV 陽性血漿を細胞に感染は PBS を用いてウイルスを希釈して 100 μL ずつ細胞に感染させた。感染後は S/D 処理と同様に培養し、HBs-RNA 測定の場合は、2、4、7、11、14 日後に細胞を回収した。DNA では更に 18 日と 23 日間培養した。

4. 液状加熱による HBV の不活化

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 ~ X 10^{2.5} まで 10^{0.5} ずつ段階希釈し、100 μL 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 ~ X 10^{4.5} まで段階希釈し、100 μL ずつ細胞に添加した。感染後は S/D 処理と同様に培養し 14 日後に細胞を回収した。

5. 感染価の評価

DNA は QIAamp DNA mini kit、RNA は RNeasy mini kit (DNase 処理) を用いて抽出し、Nuriyara (J. Clin Microbiol. 48:3843-51. 2010) の方法で HBs-RNA と HBs-DNA を核酸増幅法で定量した。陽性となった最大希釈倍率の逆数を感染価とした。

C. 研究結果

1. 界面活性剤(S/D)処理による HBV の不活化

3 種類の HBV 陽性血漿を用いて評価したが、1 時間の処理では感染性が検出されることもあったが、3 時間後には全て検出限度以下にまで不活化された (表 1)。また、HBV のモデルウイルスとして用いられてきた仮性狂犬病ウイルスも検討したが、1 時間の処理では 2Log 程度の不活化しかされなかったが、3 時間では検出感度以下になった (図 1)。

2. 感染後の HBs-RNA 転写量の継時的測定

感染 2 日目の HBs-RNA 量を 1 とすると感染 4 日目から増加し、11 日前後でピークとなった。約 20 倍増加した。一方、HBs-DNA 量は感染初期には増加は認められず 23 日目頃になって増加が認められた。添加した感染価による差は認められなかった。

3. 液状加熱による HBV の不活化

60°C-10 時間の液状加熱処理によっても HBs-

RNA が検出されたことから完全には不活化されないことが示唆されたが、感染後の HBs-RNA 量の推移のデータからより正確に液状加熱の効果解析するために継時的(感染 2 日～11 日間)に HBs-RNA 量を測定した。10 倍に希釈した検体を細胞に感染させ S/D 処理と同様に培養し、継時的な HBs-RNA 量を測定したところ 11 日まで増加は認められなかった。少なくとも 10 倍希釈以上までは不活化されていると思われた。

D. 考察

先行研究で感染性評価の指標として HBs-RNA の定量が、有用であることを示したので今年度は S/D 処理による HBV の不活化を評価した。文献では 30 分程度で不活化されるとの報告もあったが、実際は 1 時間の処理では感染性は残存することもあるが、3 時間では感染性は検出以下にまで不活化された。モデルウイルスの仮性狂犬病ウイルスも同様に評価したが、1 時間では 2Log 程度しか不活化されなかった。3 時間では HBV と同様に検出感度以下に不活化された。一般的にエンベロープを有するウイルスに対し、S/D 処理は有効であるが、今回、HBV に対しても有効であること初めて証明することができた。

また、本感染系の HBs-RNA と DNA の継時的な推移を確認したところ、HBs-RNA は感染早期に急速に増加したが、DNA の増加までは微量でしかも時間を要した。本研究を含め HBV の感染系では二次感染が生じ難いことが知られているが、今回、明らかになった HBV-DNA の合成が少ないことが反映していると考えられた。

昨年度評価した液状加熱によるウイルス不

活化では、10 時間加熱によっても HBs-RNA が検出されたため感染性が残存すると考えたが、より正確に不活化を評価するために継時的に HBs-RNA 量を測定したところ、減少するだけで増加は確認できなかった。そのため HBs-RNA が検出できたのは、感染していたのではなくウイルス粒子が細胞に接着しているだけの可能性がある。最近、HBV 粒子の中に HBV-RNA(多種の長さがあるが)が存在することが知られるようになった。この研究で使用した血漿から HBs-RNA が容易に検出できたことから裏付ける結果となった。更に感染効率を高めるために培養液に添加した PEG が付着を促進している可能性がある。今年度から感染 2 日後までは PEG 添加しないで培養し、十分洗浄後に添加する培養法に変更したのは適切であった。

E. 結論

S/D 法による HBV の不活化法を評価し、容易に不活化できることが確認できた。また、HBs-RNA を継時的に定量することでより正確な不活化の評価が可能であることが明らかとなった。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 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 72 回日本輸血・細胞治療学会総会, 千葉, 2023.
2. 岡田義昭、野島清子：B型肝炎ウイルスの *In vitro* 感染系を用いた血液製剤の不活化効

果と抗HBs免疫グロブリン製剤の中和活性の評価（第2報） 第70回日本ウイルス学会学術総会、仙台、2023.

著書

岡田義昭 血液製剤から見たプリオン、バム
サジャーナル35（3） 144-151, 2023.

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

	HBV血漿-A		HBV血漿-B		HBV血漿-C	PRV	
	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.1	Exp.2
0 h :	$10^{3.5}$	$10^{4.0}$	$10^{3.5}$	$10^{3.0}$	$10^{3.0}$	1.6×10^7	1.0×10^7
1 h :	<10	$10^{2.0}$	<10	<10	$10^{2.5}$	1.0×10^5	6.8×10^5
3 h :	<10	<10	<10	<10	<10	$<3.6 \times 10$	$<3.6 \times 10$
クリアランス	$>10^{2.5}$	$>10^3$	$>10^{2.5}$	$>10^2$	$>10^2$	$>4.4 \times 10^5$	$>4.4 \times 10^6$

PRV:仮性狂犬病ウイルス

表1. 界面活性剤(S/D)処理によるHBV不活化

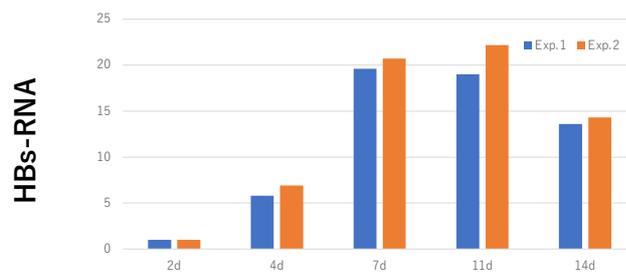


表2. HBVの感染後のHBs遺伝子の挙動

生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラ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 室長
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 センター長

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。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、昨年度に実施したMポックスウイルス **MPXV_JPN2022_YK006** クレード**2b** (2022年に日本で分離された) に加え、病原性の強い、MPXV/Zr599クレード**1a**と、MPXV_Liberiaクレード**2a** を加えて、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。また、低pH処理への感受性についても比較した。

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。またタイでは献血後にエムポックスを発症し、献血時の血液からMPXV DNAが検出された事例も報告され、幸い輸血感染症事例とはならなかったことが報告されている(Emerg Infect Dis 2024; 30(3): 603-605)。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、昨年実施した2022年に日本で分離されたM痘ウイルス(MPXV_JPN2022_YK006)に加えて、病原性の強い、MPXV/Zr599クレード1aと、MPXV/Liberiaクレード2aを加えて、PBS下、およびウイルスを安定化する蛋白共存下(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。また、3.3%酢酸処理に対する感受性について検討した。

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, MPXV/Zr599, MPXV/Liberia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。

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、FBS2%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、FBS2%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 **MPXV/ Zr599**, **MPXV_Liberia** の各ウイルスを各 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 不活化処理および感染価の測定

新たに融解した **MPXV_JPN2022_YK006**、**MPXV/ Zr599**, **MPXV_Liberia** のウイルスを 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十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。

各ウイルスは、5%または 2%FBS 入り DMEM メディウム、PBS, 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ジップロックに入れて空気を十分に抜き、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 分反応後に回収した。実験は独立して 3 回実施した。

酸処理は、3.3v/v%となるように酢酸を培地に添加し、ウイルスを 1:9 の割合で酸性培地にスパイクし、15分処理した。処理後 1N NaOH を添加して pH を中性に戻した。酸処理済みウイルス溶液中のウイルス力価は、加熱処理溶液と同様に、プラークアッセイ法により確認した。

C. 研究結果

MPXV/ Zr599 および **MPXV_Liberia** 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 5log 以上の不活化が認められ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。

15 分の酸処理後中性に戻した **MPXV_JPN2022_YK006**、**MPXV/Zr599**, **MPXV**

/Liberia 液のウイルス力価を測定した結果、いずれのウイルスも感染性が検出限界以下となり、5log 以上の不活化が認められた。

D 考察

エンベロープを有するウイルスは加熱や酸処理に感受性があると言われている。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、今年度検討した MPXV/Zr599 クレード 1a, MPXV /Liberia クレード 2b は昨年度検討した MPXV_ JPN2022_YK006 クレード 2b と同様に、60℃加熱処理による検出限界以下となった。また酸処理でも同様に検出限界以下となり、クレードの違いによる病原性の強弱に関わらず、5log 以上の不活化効果が認められた。また同じくエンベロープを持つ SARS-CoV-2 では同様の酸処理では 1log 程度の不活化効果しか認められないことから(未発表データ)エンベロープウイルスでも感受性の強弱に差がわかることがわかった。また、本研究とは別に、リアルタイム PCR による MPXV 核酸 DNA 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したが、酸処理、加熱処理は核酸検出には影響なく、処理しても十分に核酸は回収されることが明らかとなった。本研究での不活化評価は、核酸検査のための不活化ウイルス由来参照品の作製にも貢献した。また、仮にエムポックスウイルスが感染性を保ったまま分画用血漿に混入した場合であっても、製造工程の加熱処理や酸処理により十分に不活化され安全性が担保できることが示された。

E 結論

いずれのクレードのエムポックスウイルスが分画用血漿に混入した場合であっても、製造工程の加熱処理や酸処理により十分に不活化され安全性が担保できることが実ウイルスを用いて示された。。

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. S aturation 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) 岡田義昭、小川清子、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2報) グロブリンの

中和活性の測定 (第2報) , 日本輸血細胞治療学会 2023年5月

- 2) 関洋平, 野島清子, 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, 水上拓郎, 吉原愛雄, 濱口功 武漢型及びオミクロン対応型 2 価ワクチンブースター接種 (4 回目) 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. 70 回日本ウイルス学会学術集会 2023 年 9 月.
- 3) 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 功武漢型, BA.1 及び BA.4-5 対応型 SARS-CoV-2 mRNA ワクチン (コミナティ筋注) ブースター接種 (4 回目) による SARS-CoV-2 オミクロン変異株に対する有効性及び安全性に関する研究第27回日本ワクチン学会・第64回日本臨床ウイルス学会合同学術集会

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

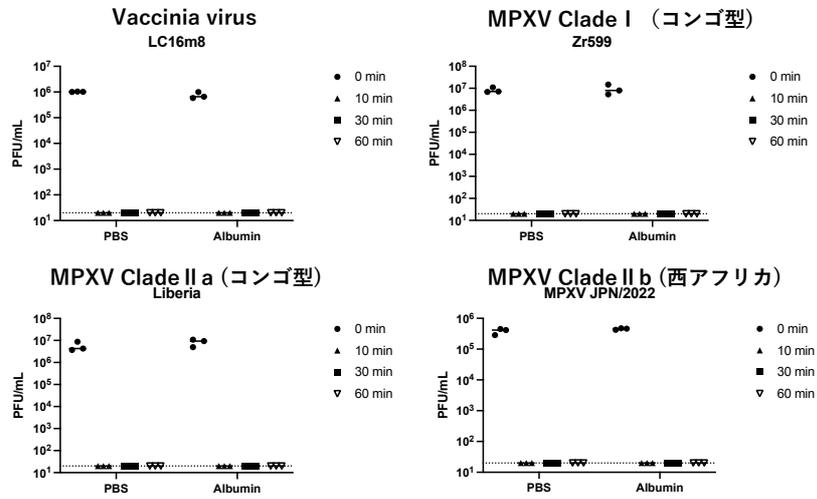


図 1 エムボックスウイルスの 60 度加熱処理による不活化

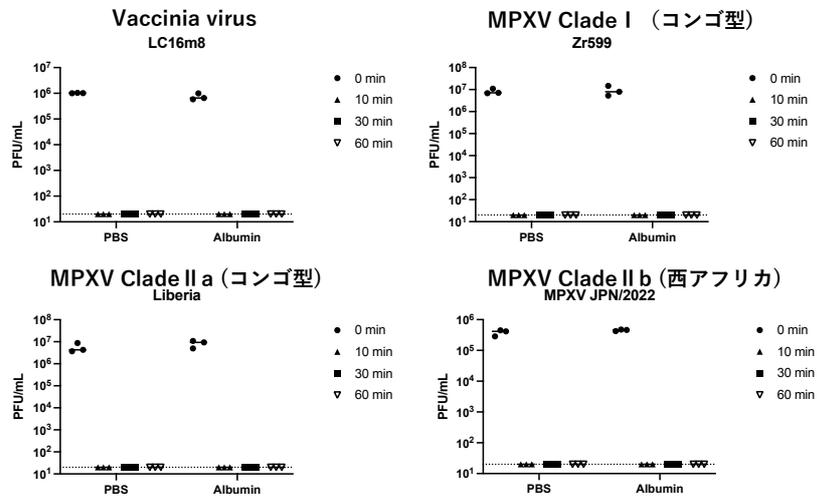


図 2 エムボックスウイルスの酸処理による不活化

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 センター長
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 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 櫻木 小百合 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。

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。

2023 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、**2023** 年度は **SARS-CoV-2** の5類移行に伴い、人流の流れが再開し、様々な新興・再興感染症のアウトブレイクが世界で確認された。特に、デング熱の発生はバングラディッシュ、ペルー、台湾、チャドでもアウトブレイクが確認された。特に、アメリカ大陸でもアウトブレイクが確認され、今後の対応が求められると考えられる。また、**2022** 年度の情報分析から課題とされた、エムボックス検出系に関しては、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、現状で準備されている手法で十分検出可能であることが示された。

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。

また、2022年度の情報リスク分析結果から、エムボックスに関しては、感染研法や市販されているキット等の性能調査を行い、必要に応じ、献血検体からの検出系の開発が求められていた。そこで、2023年度は感染研法及び2022年度末時点で市販されているキットを購入し、我々が感染症安全対策体制整備事業で整備したエムボックス標準品を用い、性能調査を行うこととした。

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。

PCR検査キットの性能調査

感染症安全対策体制整備事業において作製されたエムボックスウイルス3株(JPN/2022_YK006, Liberia, Zr599)由来の不活化ウイルス国内参照品(核酸量既知)を用いて、国立感染症研究所「病原体検出マニュアルM痘ウイルス」に従い primer 及び probe を準備し、スタンダードDNAを用いて real-time PCRによる核酸検出法を立ち上げた。

参照品を用いて、国内で販売されている5つのエムボックス検出キット(A,B,C,D,E社)について性能評価を実施した。

(倫理面への配慮)
特になし。

C. 研究結果

2023年度 海外の感染症動向

2023年度もSARS-CoV-2の様々な変異株が発生した。3月22日にWHOはBA.2.10.1とBA.2.75の組み換え体であるXBB.1.16を

6つ目のVUM (Variant under monitoring) に指定した後、4月にはリスク評価をLowとした。8月にはXBB.1.9.2の子孫系統であり、既にVUMに指定されていたEG5.1とそのsub-lineageをVOI (Variants of Interest)に指定、リスク評価はLowとした。またBA.2.86をVUMに追加し、12月にはSpikeタンパクにL455F変異が追加されたJN.1を、親系統のBA.2.86とは別に、VOIとして分類しリスク評価をLowとした。

いずれの流行株に関しても、高い免疫逃避性を示すものの、重症化を示すようなものではなく、献血血液に影響するような性状変化も認められなかった。

赤道ギニアでは4月に発生したマールブルグ病のアウトブレイクが発生し、最終期に17例の感染、12例の死亡が報告され、5月末に終息したが、タンザニアなどのへの感染が拡大した。

8月には北マケドニアでクリミアコンゴ出血熱の患者が発生し、医療従事者への感染も報告された。

デング熱に関しては世界的な流行が認められ、バングラディッシュ、ペルー、台湾、チャドでもアウトブレイクが確認された。特に、アメリカ大陸でもアウトブレイクが確認された。

9月にはインドのケララ州でニパウイルスのアウトブレイクが確認され、感染確定した6名のうち、2名が死亡した。最初の1例目の感染源は不明だが、残り5名は家族や医療従事者など、1例目の接触者である。

2023年度末より、中国で未知の病原体による未診断肺炎が流行した。同時期、米国でも小児の肺炎が流行した。また欧州では引き続き、麻疹のアウトブレイクが続いている。

インフルエンザに関しては、ポーランドや韓国で猫にH5N1の感染事例が報告され、餌に含まれていたH5N1感染鳥の影響と考えられている。2024年にはカンボジアやベトナムでHPAI H5N1の人への感染・死亡例が報告されたが、ヒト-ヒト感染は生じていなかった。

2023年度の国内動向

国内の発生動向では、SARS-CoV-2の流行は、世界の流行よりやや遅れて発生し、4月から7月にかけてXBB.1.16が、8月からはEG5.1が増加した。11月には国内でHK.3が検出され、2024年1月にはJN.1の流行が確認されている。

2023年6月に、2022年初夏に茨城県内で亡くなられた方がオズウイルス感染によるものだったことが報告された。日本国内では2018年にタカサゴキララマダニより分離されており、千葉県や岐阜県、三重県などの野生動物から抗OZV抗体が検出されていた。また、山口県の狩猟者の血清を用いた検査でも24名中2名の方が抗体を保有していたが、OZV感染による死亡例は初めてであり、今後の注意が必要である。

5月に名称変更したエムポックス (旧サル痘)に関しては、12月に本邦初となる死亡例が発生したが、感染者数は減少傾向にある。

病原体ごとの情報収集結果とアセスメント

エムポックス

2022年5月以降、欧米を中心に発生したエムポックスは瞬く間に世界に広がり、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、渡航先でエムポックス患者に接触歴のあるエムポックス患者が初確認されて以後、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 月より関東近郊でエムポックス患者が急増し、最終的に 2024 年 5 月 17 日現在、日本国内では 246 例となっている。また、2023 年 12 月には初の死亡例が発生している。

世界的な流行は減少傾向にあるが、依然、米国等での発生が続いている。2023 年 12 月 22 日付の WHO の report では、171 例の死亡例を含む、92,783 例が 116 カ国から報告されている。2023 年 5 月に WHO は PHEIC を終了したが、アジアでの増加が報告された。2023 年 8 月ではタイにおいて大規模な流行が発生し、8 月 31 日時点で 316 例の感染者、1 例の死亡例が報告されている。主に 10 代が多いのも特徴である。

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。その後も、Mpox 感染者において血中 Mpox DNA の検出事例は多数報告されているが、ウイルス分離の報告なく、また現在までに献血による感染事例の報告はない。欧米では Mpox の感染者が増加した時期のプール血漿を用いた検証がされ、米国 (4636 検体及び HIV 感染者 465 検体)、英国 (10896 人で構成される 454 個の 24 人ミニプール)ともに、すべて陰性であり、無症候者による献血はなかったと考えられており

(Transfusion. 2023; 63: 690-695, Transfusion. 2023; 63: 1797-1802.)、輸血による感染リスクは低いと考えられている。

一方、日本では NCGM において、感染者が増加した時期 (2023 年 1-3 月) における MSM (1341 例)の方の血中 DNA の解析から、PCR 陽性例 5 名のうち、1ヶ月以上経過しても無症状であった人が 3 名あり、また PCR 陰性でその後発症した例が 4 例あり、無症候者の割合が underestimate されているとの報告がある (Emerg Infect Dis. 2023;29:1872-1876)。しかし、日本においては、献血の際に過去 6 ヶ月以内の新規パートナーや男性同士の性交渉をされている方の献血をお断りしていることもあり、現状で無症候の方が献血されることは考えにくい。本邦でも 2022 年 7 月 29 日付 薬生発 0729 第 1 号でのエムポックス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言える。

そのような中で、2024 年 3 月の Emerg Infect Dis 誌に、Mpox 発症前のドナー血液から MPXV DNA が検出され、ドナー由来の血小板製剤を輸血されたレシピエント (11 歳、女兒、デング感染治療中)からは輸血後 1 ヶ月間、MPXV DNA は検出されず、発症もしなかったという報告がされた (Emerg Infect Dis. 2024; 30: 603-605.)。診断した医師から Thai の保健当局に報告があり、そこから血液センターに連携され、赤血球製剤等の回収がなされ、4 人プールによる血小板輸血のみにとどまった事例といえる。

この報告からも、輸血による感染リスクは低いことが再度確認されたが、無症候の感染者から献血された場合、輸血される可能性があることが確認された。本邦において

も、診断時に献血の有無を確認するなどし、必要に応じ日本赤十字社まで同様の連携が行えるのか、再確認する必要はあると考える。

デング熱

近年、東南アジアでデング熱の発生が増加している。台湾 CDC によると、2023 年 7 月 4 日から 10 日の間に 125 名の感染者が報告された。7 月 10 日時点で総数 298 名、そのうち 267 名が台湾市での報告となる。台湾は 2015 年に 228 名の死者を含む 43,000 人以上が感染した深刻な流行があった。その後も輸入感染者が増加し、2019 年には最多の 540 名が感染している。日本と台湾の相互の人流は多く、台湾からの訪日者数は約 489 万人 (2019 年) となっている。

バングラディッシュでは、2023 年の 8 月までで 6 万 9483 名の感染者、327 名の死者を報告している。2023 年 6 月にはバングラディッシュで、デング熱のアウトブレイクが発生し、6 月 1 日からの 10 日間で 999 人がデング熱と診断されている。その後も増加し、7 月だけで全症例の 63% が発生している。DENV2 と DENV3 は循環しているが、2023 年のアウトブレイクでは DENV2 が主要な循環血清型であった。2000 年代に入り、最も多い感染報告となっている。バングラディッシュから日本への入国者数は 2023 年 3 月の 1 ヶ月で 1500 名、2018 年の 1 年間で述べ 17000 人である。2023 年の輸入症例としてバングラディッシュに渡航歴のある症例が 1 例報告されている。

また、アメリカ大陸でもデング熱患者は増加している。2023 年の第 26 週までに大陸全体で 299 万人のデング熱症例、1302 人の死亡症例が報告され、感染者のうち、ブラジ

ルが 237 万、ペルーが 18 万、ボリビアが 13 万となっている。PAO/WHO の報告によると、ペルーでは、2023 年 6 月 3 日までの総患者数が 130,826 人で前年比 213% 増であった。2023 年のデング熱による死亡は 201 人である。DEN1, DEN2, DEN3 の血清型が循環している。2019 年の訪日者数は、ブラジルが 7 万人、ペルーが 4 万人、ボリビアが 1 万人となっている。

2023 年 8 月にチャド共和国で初のデング熱アウトブレイクが発生した。血液検体 12 検体のうち 8 検体でデングウイルスが検出されている。10 月時点で確定例 41 例、疑い例 1342 例となっており、1 名の死亡が確認されている。血清型は不明である。

欧州では、2010 年よりデング熱の感染事例が報告されており、2023 年 10 月 21 日時点でフランス、イタリア、スペインで 94 例の症例が報告されている。EU/EEA 本土では 160 例が報告されている。

日本では 2014 年、2019 年を除き、国内感染例の報告はないが、デングウイルスを媒介するネッタイシマカは本土では未定着だが、ヒトスジシマカは北海道を除く全国に生息している。欧州ではヒトスジシマカによってデングウイルスが媒介されているが、2018 年から 2022 年の間に欧州からの輸入症例はない。国内では検疫所でベクターサーベイランスが実施され、東京都もサーベイランスを実施しており、適切に調査・駆除がなされており、現状で輸入される可能性は低いと言える。しかし、コロナ 5 類移行後の海外旅行者の増加等によりリスクは低いが存在しているため、継続的な対策が必要である。また、献血血液のウイルス安全性に関しても、適切に対応できるよう、準備が求め

られると考える。

Mpox PCR 検査キットの性能調査

感染症安全対策体制整備事業で作成された Mpox 参照品を用い、現行の核酸検査法の性能調査を行った。その結果、感染研法により、10 copies/assay 程度の感度で測定ができていたことがわかった (図 1~2)。

続いて、市販されているキットに関し、検証を行った。結果は以下の通り。

希釈 倍率 (log)	Mpox_Zr599	Mpox_Liberia	Mpox_JPN/ 2022_YK006
-1	100	100	100
-2	100	100	100
-3	100	100	100
-3.5	100	70	80
-4	70	20	70
-4.5	50	50	20
-5	20	0	0
-5.5	0	0	20

図 1 : 感染研病原体検出マニュアルにより Mpox F3L 遺伝子を標的とした PCR 検査
* 数値は検出割合(%)を示す

希釈 倍率 (log)	Mpox_Zr599	Mpox_Liberia	Mpox_JPN/ 2022_YK006
-1	1770.5	1136.8	429
-2	225.5	101	42.8
-3	24.2	13	13.7
-3.5	9.2	2.8	6.2
-4	2.2	0.8	1.2
-4.5	0.8	1	0.2
-5	0.2	ND	ND

-5.5 ND ND 0.2

図 2 : 感染研病原体検出マニュアルにより Mpox F3L 遺伝子を標的とした PCR 検査の 1 アッセイあたりのコピー数

各キットの結果

- A 社
Mpox_Zr599: 6.1 コピー
Mpox_Liberia: 8.7 コピー
Mpox_JPN/2022_YU006: 4.1 コピー
- B 社
Mpox_Zr599: 40.3 コピー
Mpox_Liberia: 21.7 コピー
Mpox_JPN/2022_YU006: 10.3 コピー
- C 社
Mpox_Zr599: 2.5 コピー
Mpox_Liberia: 2.5 コピー
Mpox_JPN/2022_YU006: 3.5 コピー
- D 社
Mpox_Zr599: 5.6 コピー
Mpox_Liberia: 6.7 コピー
Mpox_JPN/2022_YU006: 1.1 コピー
- E 社
Mpox_Zr599: 3.6 コピー
Mpox_Liberia: 1.7 コピー
Mpox_JPN/2022_YU006: 1.9 コピー

感染研法に比べ、A~E 社の方が、やや感度が高いことが示されたが、これは持ち込む核酸量の違いによるものであると考えられた。

D. 考察

2023 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。特にエムボックス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、またタイでの献血血液への混入事例からも、引き続き注視が必要である。しかし、標準品の作成や検査法の確定により、国内発生時に対応できる状況ができつつあると言える。

リアルタイム PCR の検出感度について現状の感度でも大きな問題はなく、新たな Primer/Probe の構築を検討する必要性は低いと考えられる。より高感度な検出を行うためには、1 アッセイあたりにアプライできるサンプル量を増やすことの方が重要であると考えられる。

一方、デング熱に関してはアジアのみならず、アメリカ大陸での増加が問題となっている。ポストコロナになり、インバウンドも増えている中で、国内に持ち込まれることが予想される。こちらも参照品等を含め、体制整備が求められる。

E. 結論

2023年度は SARS-CoV-2 が 5 類感染症に移行した中で、様々な感染症が流行した。特に、海外での麻疹やデングの発生状況は、輸血による感染リスクがあるので、懸念されるところである。また、インフルエンザ対策等を鑑みると、動物での実態調査を行い、適宜リスク評価することが望ましい。また OZV のような新規のウイルスも注視が必要である。国内の節足動物でのウイルス検査を実施している部門との連携により、より実態に即したリスク評価を進める必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS,

Wibisono B, Kim JW, Ramondrana D, Mizukami T, Ochiai M, Samat AA, Mangorangca C, Thi DL, Van HP, Shim SB, Seong SK, Shin IS. Report for the Eighth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2023: Self-sufficiency strategy of plasma-derived medicinal products and regulatory harmonisation. *Biologicals*. 2024; 85: 101754.

- 2) 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*. 26(5):106694
- 3) Specific COVID-19 risk behaviors and the preventive effect of personal protective equipment among healthcare workers in Japan. Shimbashi R, Shiino T, Ainai A, Moriyama S, Arai S, Morino S, Takanashi S, Arashiro T, Suzuki M, Matsuzawa Y, Kato K, Hasegawa M, Koshida R, Kitaoka M, Ueno T, Shimizu H, Yuki H, Takeda T, Nakamura-Uchiyama F, Takasugi K, Iida S, Shimada T, Kato H, Fujimoto T, Iwata-Yoshikawa N, Sano K, Yamada S, Kuroda Y, Okuma K, Nojima K, Nagata N, Fukushi S, Maeda K, Takahashi Y, Suzuki T, Ohnishi M, Tanaka-Taya K.

- Glob Health Med.** 2023; 5: 5-14.
- 4) Zhuo SH, Noda N, Hioki K, Jin S, Hayashi T, Hiraga K, Momose H, Li WH, Zhao L, Mizukami T, Ishii KJ, Li YM, Uesugi M. Identification of a Self-Assembling Small-Molecule Cancer Vaccine Adjuvant with an Improved Toxicity Profile. **J Med Chem.** 2023; 66:13266-13279.
 - 5) Matsuoka S, Facchini R, Luis TC, Carrelha J, Woll PS, Mizukami T, Wu B, Boukarabila H, Buono M, Norfo R, Arai F, Suda T, Mead AJ, Nerlov C, Jacobsen SEW. Loss of endothelial membrane KIT ligand affects systemic KIT ligand levels but not bone marrow hematopoietic stem cells. **Blood.** 2023 Nov 9;142(19):1622-1632.
 - 6) Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhata 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.
 - 7) 平賀 孔, 関 洋平, 野島 清子, 吉原 愛雄, 水上拓郎. mRNA ワクチン等の次世代生物学的製剤の新規安全性評価法の開発. 細胞(1346-7557)55 巻 11 号 Page930-934(2023.10)
2. 学会発表
 1. 水上拓郎, 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる感染予防法の開発, 第 27 回 神経感染症学会 教育講演 2023 年 11 月 13-14 日
 2. Poonam Grover, Megumi Murata, Maureen Kidiga, Hirotaka Ode, Yasumasa Iwatani, Mayumi Morimoto, Takayoshi Natsume, Akihisa Kaneko, Yuiko Kubota, Jun-ichirou Yasunaga, Masao Matsuoka, Madoka Kuramitsu, Yohei Seki, Takuo Mizukami, Hirofumi Akari. Identification of natural remission of mother-to-child retroviral transmission. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting: Retroviruses, May 22 - 27, 2023
 3. 平賀 孔、手塚 健太、永田 幸、高 起良、中村 仁美、相良 康子、蕎麦田 理英子、佐竹 正博、谷生 道一、三浦 清徳、水上 拓郎、浜口 功、倉光 球. Digital PCR を用いた HTLV-1 プロウイルス欠失の簡易検出法の開発. 第 9 回日本 HTLV-1 学会, 2023 年 11 月 10-12 日 京都
 4. 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, 今井 恵子, 高橋 宜聖, 前田 健, 鈴木 忠樹, 吉原 愛雄, 濱口 功. 武漢型、BA.1 及び BA.4-5 対応型 SARS-CoV-2 mRNA ワクチンブースター接種によるオミクロン変異株に対する有効性及び安全性に関する研究. 日本ワクチン学会, 2023 年 10 月 21 日-22 日 静岡
 5. 関 洋平, 野島 清子, 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, 水上 拓郎, 吉原 愛雄, 濱口 功. 武漢型及びオミクロン対応型 2 価ワクチンブースター接種(4 回目)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 70 回 日本ウイルス学会, 2023 年 9 月 26 日~28 日 宮城県仙台市

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
Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS, Wibisono B, Kim JW, Ramondrana D, Mizukami T , Ochiai M, Samat AA, Mangorangca C, Thi DL, Van HP, Shim SB, Seong SK, Shin IS.	Report for the Eighth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2023:	Biologicals.	85	101754	2024
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,	Saturation time of exposure interval for cross-neutralization response to SARS-CoV-2: Implications for vaccine dose interval.	iScience.	26(5)	106694	

Ebihara H, Fukushi S, Takahashi Y, Maeda K, Suzuki T.					
Shimbashi R, Shiino T, Ainai A, Moriyama S, Arai S, Morino S, Takanashi S, Arashiro T, Suzuki M, Matsuzawa Y, Kato K, Hasegawa M, Koshida R, Kitaoka M, Ueno T, Shimizu H, Yuki H, Takeda T, Nakamura-Uchiyama F, Takasugi K, Iida S, Shimada T, Kato H, Fujimoto T, Iwata-Yoshikawa N, Sano K, Yamada S, Kuroda Y, Okuma K, Nojima K, Nagata N, Fukushi S, Maeda K, Takahashi Y, Suzuki T, Ohnishi M, Tanaka-Taya K.	Specific COVID-19 risk behaviors and the preventive effect of personal protective equipment among healthcare workers in Japan.	Glob Health Med.	5	5-14	2023
Zhuo SH, Noda N, Hioki K, Jin S, Hayashi T, Hiraga K, Momose H, Li WH, Zhao L, Mizukami T, Ishii KJ, Li YM, Uesugi M.	Identification of a Self-Assembling Small-Molecule Cancer Vaccine Adjuvant with an Improved Toxicity Profile.	J Med Chem.	66	13266-13279	2023
Matsuoka S, Facchini R, Luis TC, Carrelha J, Woll PS, Mizukami T, Wu B, Boukarabila H, Buono M, Norfo R, Arai F, Suda T, Mead AJ, Nerlov C, Jacobsen SEW.	Loss of endothelial membrane KIT ligand affects systemic KIT ligand levels but not bone marrow hematopoietic stem cells.	Blood.	142(19)	1622-1632	2023
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.	S1933-0219 (23)	00018-1	2023

<p>平賀 孔, 関 洋平, 野 島 清子, 吉原 愛雄, 水上拓郎.</p>	<p>mRNAワクチン等細胞 の次世代生物学的 製剤の新規安全性 評価法の開発</p>		<p>55巻</p>	<p>930-934</p>	<p>2023</p>

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について

令和 6年 4月 22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5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) 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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立感染症研究所	<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。

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について

令和 6年 4月 18日

厚生労働大臣 殿

機関名 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 小林 不二夫

次の職員の令和5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) 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
(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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		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)	■ □	■	一般社団法人 日本血液製剤機構	□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□ ■	□		□
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	□ ■	□		□
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:)	□ ■	□		□

(※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 ■ 未受講 □
-------------	------------

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 ■ 無 □ (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 ■ 無 □ (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 ■ 無 □ (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 □ 無 ■ (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。

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について

令和 6年 3月 31 日

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 木梨 達雄

次の職員の令和5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) 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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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 埼玉医科大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 竹内 勤

次の職員の令和 5 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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	埼玉医科大学	<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 隆宇

次の職員の令和5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) ・該当する口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 協田 隆宇

次の職員の令和5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) 次世代生物学的製剤研究センター・センター長
(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) ・該当する口を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。