

バイオテロ対策のための備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの備蓄等, バイオテロ病原体への検査対応,
公衆衛生との関連のあり方に関する研究
分担報告書

ウイルス性出血熱の診断法の充実化

所属 国立感染症研究所・ウイルス第一部・室長
研究分担者 下島 昌幸

研究要旨: バイオテロ発生時において病状回復後に病原体の遺伝子を検出して用いられた病原体を特定することは困難である。一方、病原体に対する抗体を調べることにより用いられた病原体を特定することは可能で、特異性の高い中和抗体測定が方法として適している。バイオテロ材料として用いられうるエボラウイルス等の病原体を国立感染症研究所では近年所持したため、これを用いた中和抗体測定法の確立を行なった。陽性コントロールとしてウイルスをマウスに接種して得られる抗血清を用いて、中和抗体測定法の確立に役立てた。

バイオテロ対策の1つとして実験室検査法の1つ(エボラウイルス等の中和抗体測定法)が追加されたと見える。

研究協力者

黒須 剛・国立感染症研究所・主任研究官
高松由基・国立感染症研究所・主任研究官

A. 研究目的

バイオテロ発生時、有効な対策を決める上で重要な部分の1つとしてあるのが用いられた病原体の特定である。特に病原体の遺伝子を検出することが方法として優れているが、検査材料が病原体が検出される病状期に必ずしも採取されるとは限らず、遺伝子検出だけでは病原体の特定が困難になりうる。このような場合、回復後の対象者の病原体に対する抗体の有無を調べる方法がある。抗体を調べる方法もELISA、間接蛍光抗体法等複数考えられるが、特に特異性が高いのが中和抗体測定法である。

国立感染症研究所ウイルス第一部ではエボラウイルス病等の疑い事例に対応するため遺伝子検出や抗体検出の検査法を整備してきた。エボラウイルス等の感染症法での特定一種病原体は法律上所持できなかったため、検査法を整備には人工的に作製したウイルス様遺伝子あるいは組換えウイルス蛋白質が用いられた。ウイルスを保持できなかったということは、ウイルスそのものを使用する中和抗体測定法は整備できなかったことにもつながっていた。

エボラウイルス等の特定一種病原体(エボラウイルス、マールブルグウイルス、ラッサウイルス、CCHFウイルス、南米出血熱ウイルス)はその病原性の高さ等からバイオテロに用いられる可能性はある。これま

で上述のように特定一種病原体の所持が禁止されていたことから中和抗体測定法が整備できず、バイオテロ発生に対する対策が一部できない状態であったが、2019年、厚労大臣指定により所持や輸入の禁止が解除され、国立感染症研究所のBSL4施設に限って所持することとなった。そこで、バイオテロ対策の一助とするため、所持した特定一種病原体を用いた中和抗体測定法を整備することとした。

B. 研究方法

B-1. 抗血清の作製

ICRマウスに各ウイルス 10^5 PFUを約3週間間隔で腹腔内投与し、抗血清を作製した。

B-2. 中和抗体測定法の確立

約 10^2 PFUのウイルスと希釈した抗血清を混合・培養後、Vero E6細胞に接種した。1時間後に細胞を洗浄し、0.5%メチルセルロース存在下で2-7日間培養した。細胞をホルマリンで固定し、ウサギで作製したウイルスN蛋白質に対する抗体で染色してプラーク数を数え、中和抗体価を算出した。

【倫理面への配慮】

動物実験は国立感染症研究所動物実験委員会の承認を得た上で行った。

C. 研究結果

所持した特定一種病原体11種のすべてについて中和抗体測定法を確立することができた(図1)。マウ

ス抗血清の中和抗体価はウイルスにより傾向があり
10 未満から 160 以上と様々であった。

D. 考察

特定一種病原体(エボラウイルス 4 種, マールブルグウイルス, ラッサウイルス, CCHF ウイルス, 南米出血熱ウイルス 4 種)の各々について中和抗体測定法が整備できた。

E. 結論

バイオテロ対策の 1 つとして実験室検査法の 1 つ(エボラウイルス等の中和抗体測定法)が追加されたといえる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

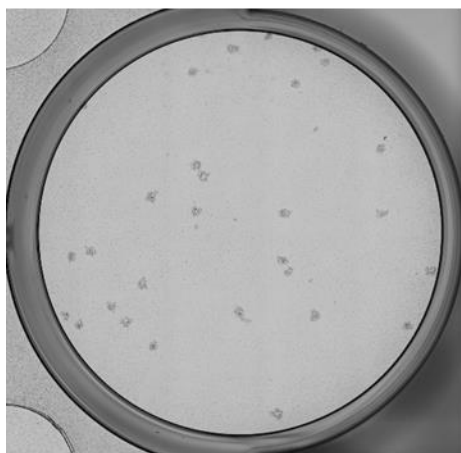
該当なし

3.その他

該当なし

図表

MARV Hartz strain
Without serum



MARV Hartz strain
With mouse serum No.2 (1:10)

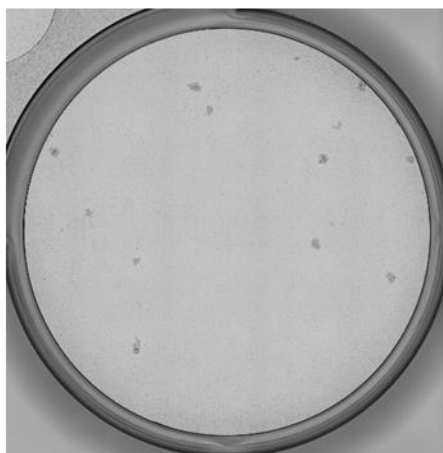


図1: マールブルグウイルスを用いた中和抗体測定

マールブルグウイルス Hartz 株を用いた中和抗体測定における, Vero E6 細胞でのプラーク検出を示す. (左) 抗血清がない場合のプラーク, (右) マールブルグウイルス Hartz 株を接種したマウスから得られた抗血清を 10 倍希釈で用いた場合のプラーク