

1 3. 血液・安全性研究部

部長 濱口 功

概要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定・検査および標準品の整備・交付、またこれらの業務に関連した科学的調査・研究を行っている。

検定業務においては、これまで試験の実施、試験法の改良・開発、試験の見直し、検定のあり方についての検討を行ってきた。令和2年度は新型コロナウイルスワクチンの承認前検査に関して緊急の対応が求められた。当部では物理化学試験に関する検討を主に行い、一部試験を実施した。また、ワクチン及び血液製剤に関する品質管理試験の見直しも継続して行い、国家検定からの試験削除に関する検証を行った。さらに今後の血液製剤の国家検定のあり方として、ワクチンにおいて既に導入が図られている SLP(サマリーロットプロトコール)審査導入を進めている。令和3年7月の本格施行に向け、SLP 審査の試行を開始した。本格施行までに経験値を積み、万全の体制で施行開始を目指す。一方、部内においては品質管理業務における業務負担の軽減と業務の均てん化を進めている。SLP 審査をより精度高く着実に実施することにより、ダブルチェックを徐々に減らすことは可能と考える。SLP 審査導入を契機に各自の業務負担を見直し、偏りのない適切な業務分担で品質管理業務が遂行できる体制の構築が重要である。

検査業務においては、令和2年度は SARS-CoV-2 の感染拡大が見られ、当部においても全所的な核酸検査業務、抗体検査業務に多くの部員が参加した。また、血液の安全性確保の観点から、微量の SARS-CoV-2 を検出できる高感度核酸検査法の開発を進めると共に、国立国際医療センターや慶應義塾大学の回復者血漿療法における SARS-CoV-2 ウイルス検査に協力している。

国際協力業務については、生物学的製剤の品質の標準化に関する Web による WHO の専門家会議に出席し、国際標準品制定に携わった。また、輸血血液を含む血液製剤の安全性や対外診断薬に関する国際的な課題については、WHO の Blood Regulators Network や SAGE-IVD のメンバーとして、

課題解決に向け定期的な審議に参加している。さらに、WPRO が後援している国際会議に Web で参加し、国家検定への SLP 審査制度の試行状況について発表し、今後の検定の在り方について議論した。今後も品質管理試験法の改良や試験に用いる標準品、参照品の整備にも積極的に取り組み、試験の精度および信頼性の向上に努める。

研究業務においては、「感染症」、「血液製剤・体外診断薬」、「ワクチン」の大きく3つのテーマでプロジェクトを進めている。「感染症」においては、血液製剤の安全性確保の観点から、新興・再興感染症に対する高感度核酸検査法の開発、HTLV-1 診断のための検査法の開発及び体制整備に関する研究を行っている。この他にも、HTLV-1 感染の疫学調査、感染予防や感染治療薬に関する研究を重点的に推進している。また「血液製剤・体外診断薬」については、血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立、体外診断薬に関連する調査・研究を行っている。さらに「ワクチン」に関して、新規アジュバント候補品の開発、ワクチンの品質管理試験法の開発・改良、アジュバント含有ワクチンの有効性、ワクチンの安全性に関するメカニズム解析等を行っている。こうした当部の研究業務は、日本医療研究開発機構、厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費等の補助により行われている。

令和2年度は SARS-CoV-2 の蔓延が拡大する中、学会活動等は著しく制限された。部内においては検定・検査及び研究業務の継続と各部員の健康維持に向けて、適切な感染防止対策を講ずるとともに、テレワーク等の新しい働き方にも柔軟に対応している。

人事の面では、令和2年4月に関洋平研究員が第一室に着任した。活躍を大いに期待している。また、令和3年4月に第一室長の大隈和先生が関西医科大学・医学部・微生物学講座の教授に就任された。長年に渡り当部の研究及び品質管理業務に多大な貢献をいただいた。お礼を申し上げるとともに、新天地での活躍を祈っている。同じく4月に斎藤益満主任研究官が感染症危機管理研究センターに配置換えとなった。活躍を祈っている。

業績

調査・研究

I. 血液製剤のウイルス安全性に関する研究

1. 病原体検出法に関する研究

1) 感染症安全対策体制整備事業

日本の献血血液に関しては、主要な病原体に対する血清学的検査及び核酸増幅検査が実施されており、極めて高い安全性が保持されてきた。しかし、グローバル化が進み国内ではほとんど発生例のないような感染症や海外での新興・再興感染症が国内に輸入され、問題となることが少なくない。平成25年4月より新たな病原体が移入した場合に備えて国立感染症研究所と厚生労働省血液対策課、日本赤十字社との連携のもと「感染症安全対策体制整備事業」を開始した。その中で、新規病原体に対する高感度核酸検査法の開発およびモニタリングを実施し、新たな感染リスクの早期把握と評価を実施してきた。令和2年度は世界的に大流行している新型コロナウイルスに対する高感度核酸検査系を開発し、さらに多数の変異株に対応可能なマルチプレックス検査系の性能を評価した。さらに、COVID-19 核酸検査のための国内参照品の作製し、共同測定により国内参照品を値付けし、試験法の標準化を可能とした。

[大隈和、倉光球、手塚健太、野島清子、石井美恵子、松山州徳(ウイルス第三部)、水上拓郎、濱口功]

2) SARS-CoV-2 に対する高感度核酸検査法の開発

血液製剤の安全性確保のため、様々な既知の病原体に対して高感度なスクリーニング検査が実施され、本邦における血液製剤の病原体に対する安全性は極めて高く管理されている。しかしながら、近年、海外からの新たな病原体の輸入例が増加し、国内に定着した場合の血液製剤の安全性確保のため、優れた特異性および感度を有する核酸検査法を事前に準備しておく必要がある。令和2年度は、世界的なパンデミックを引き起こした SARS-CoV-2 が微量に血液製剤に混入した場合を想定し、Primer-probe の大規模スクリーニングを実施し、高感度核酸検出法を構築した。血液を介して感染する HBV, HCV, HIV や蚊媒介ウイルス、一般的なコロナウイルスには非特異増幅がないことを確認した。

[倉光球、手塚健太、松山 州徳(ウイルス第三部)、白戸憲也(ウイルス第三部)、直享則(ウイルス第三部)、林昌宏(ウイルス第一部)、鈴木忠樹(感染病理部)、今井一男(自衛隊中央

病院)、松岡佐保子、大隈和、濱口功]

3) 血液からの重症熱性血小板減少症候群ウイルス等の検出法確立に関する研究

近年我が国では Dengue ウイルスの国内感染例の発生や海外での重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)の同定に伴う国内感染例の確認等がなされ、国際的な人の移動や新たな病原体の発見等に伴う新興・再興感染症病原体の献血血液等への混入リスクは益々認知されている。そのため、血液への混入状況をいち早く察知し血液製剤のリスクを低減化する必要がある。そこで本研究では、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、既に国内感染が認められ献血血液等におけるスクリーニング法の整備が急がれる SFTSV の高感度核酸検査法の確立を目指す。本年度はこれまでに同定したプライマー・プローブセットを用いたマルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法の性能評価(検出感度、検出特異性)を実施した。また、いくつかの SFTSV 特異的リアルタイム RT-PCR 法との比較検討も実施した。

[手塚健太、大隈和、下島昌幸(ウイルス第一部)、岡田義昭(埼玉医大)、濱口功]

4) HTLV-1 簡易迅速抗体検査法の性能評価

HTLV-1 感染の検査は、献血スクリーニング検査や妊婦健診等で主に抗体検査が実施されるが、HBV, HCV, HIV などと違い迅速抗体検査法(即日検査キット)がないため、保健所等での検査が普及しにくい状況があることが課題となっている。そこで、抗体検査キット開発メーカーが開発した簡易迅速 HTLV 抗体検査キットについて、国内の大学や日本赤十字社が参加する多施設共同研究にて、HTLV-1 陽性検体や判定困難例、陰性例等を用いて、キットの性能を評価し、HTLV-1 抗体検査の速やかな普及に向けた取り組みをはじめた。これまでのところ国内 10 施設が参加し、約 2500 検体の規模で性能を評価している。

[倉光球、百瀬暖佳、手塚健太、濱口功、他国内 9 施設]

5) 血液製剤のウイルス安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)のコントロールサーベイ事業

2013-14 年に血液製剤の NAT が新しいマルチプレックス試験法に更新され、NAT ガイドラインと輸血用血液の NAT 感度の改正が行われた。2020 年度は新しい試験法における

HIV-1 NAT の特異性の実態把握を目的として、HIV-1 CRF WHO 国際参照パネルを用いた第 11 回 NAT コントロールサーベイを実施した。輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1/2 識別試験、血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験において、10 種類の異なる Subtype/CRF の HIV-1 陽性検体を問題なく検出できることを確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。NAT コントロールサーベイ対象施設全 13 施設において、様々な HIV-1 Subtype/CRF 検体を問題なく検出できることが確認できた。

[松岡佐保子、佐藤結子、池辺詠美、手塚健太、倉光球、濱口功]

2. 国際・国内標準品整備に関する研究

1) 国内検体を用いた HCV 陽性感染症検体パネルの整備と評価

HCV 検出/測定用の感染症検体パネルについて HCV 陽性 20 検体の整備を行い、HCV 抗体の確認とプロファイル解析、HCV RNA 値、および HCV コア抗原値の分布を評価した。HCV 部分配列のシーケンス解析を行って遺伝子型を検討し、日本で見られる 1b 型、2a 型、2b 型を多く含んでいることを確認した。2 検体でコア抗原値が低値となりうるアミノ酸変異を認め、うち 1 検体では HCV RNA 値と比較してコア抗原値が低値となった。

[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、濱口功]

2) SARS-CoV-2 核酸検査のための国内参照品の作製と値付けのための共同測定

力価が定められた生ウイルス由来の核酸検査用標準品は日本にはなく、国際標準品も現在のところ貴重品であり入手が困難であることから、国内参照品を整備した。SARS-CoV-2 (JPN/ty/wk-521)を 60°C60 分の加熱により不活化し感染性がないことを確認後、血漿ベースマトリックスで希釈(血液用 NIID_001/2020)したもの、ユニバーサルバッファーで希釈したもの(一般用 NIID_002/2020)を 1000 本ずつ作製し、臨床検査薬協会の協力を得て、10 施設で値付けを実施した。また国際標準品の入手が可能であった日本赤十字社と国立感染症研究所の 2 施設のデータを元に、国内参照品に対して国際単位 IU/mL の表示値を付与した。定量法と定性法の双方の結果を考慮し、一般用(NIID_002/2020)を国内参照品とし、その力価を 6.92 log₁₀ Units/mL (7.08 log₁₀ IU/mL)、また国内参照品

に対する相対価として血液用(NIID_001/2020)の力価を 6.73 log₁₀ Units/mL (6.88 log₁₀ IU/mL) とした。

[野島清子、落合雅樹(品質保証・管理部)、関洋平、大隈和、水上拓郎、濱口功]

3) ウイルス等に関する体外診断薬の国際標準品に関する動向調査

2020 年度の SoGAT 会議では第 1 次 HSV-1 DNA 国際標準品、第 1 次 HSV-2 DNA 国際標準品、第 1 次 SARS-CoV-2 RNA 国際標準品、第 1 次 WNV RNA 国際標準品、第 1 次 MERS 抗体国際標準品、第 1 次 SARS-CoV-2 抗体国際標準品、第 1 次 vivax 抗原国際標準品、第 1 次 vivax 抗体国際標準品の進捗が報告された。準備の整ったものは WHO ECBS に諮問され、英国機関 NIBSC より順次交付が開始されている。第 1 次 SFTS RNA 国際標準品に関しては、2022 年の制定を目指すことが報告された。

[百瀬暖佳、濱口功]

4) 体外診断薬の性能評価に係る諸外国の動向調査

米国での体外診断薬の評価体制を調査した。体外診断薬のうち、高リスクの class III に分類される場合は市販前承認が、中リスクの class II に分類される場合は市販前届が課されるものが多い。市販前届では先発機器と申請品との実質的同等性を示す必要があるが、古い先発機器を対照として選択できる状態にあり、改善が求められている。また、FDA による審査期間の長期化が問題となっていたが、業務の一部を第三者機関が担う等の対策が取られ、審査期間は短縮化の傾向にある。審査プロセスの合理化に向けて、電子化の導入も進められている。

[百瀬暖佳、濱口功]

3. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1) B 型肝炎ウイルス X 蛋白質(HBx)と LC3B の分子間相互作用解析

HBx は LC3B (オートファジー関連因子) と直接相互作用できる LC3-interacting region(LIR)配列を BH3 様モチーフに持つため、LC3B と直接結合できると考えた。前年度は、この BH3 様モチーフと LC3B との相互作用を GST プルダウンと ITC で解析し、HBx BH3 様モチーフが LC3B と約 1~3 μM の親和性で結合することを明らかにした。現在、この結合様式を詳細

に解明するため、複合体結晶構造解析と NMR 複合体構造解析に取り組んでいる。

[楠英樹、濱口功]

2) 患者由来 C 型肝炎ウイルス (HCV) の培養細胞での増殖

血液製剤に混入する可能性がある患者由来 HCV の不活性化を明らかにするため、患者由来 HCV の培養細胞での増殖を試みている。HCV JFH1 株以外の株が増殖できる FU97 細胞に HCV の増殖に重要である宿主因子 Sec14L2 を発現する細胞を作製し、Sec14L2 を高発現する細胞株をクローニングし、新たに入手した患者由来血漿を感染させた。その結果ゲノム RNA レベルではあるが、今回初めて患者由来 HCV の増殖を検出することが出来た。

[野島清子、下池貴志(ウイルス第二部)、脇田隆宇、村松正道(ウイルス第二部)、岡田義昭(埼玉医大)]

3) 新型コロナウイルスの不活化に関する研究

新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の無症候感染者が存在することから、健常な感染者が献血する可能性がある。また血液検体から SARS-CoV-2 RNA が検出される RNAemia の存在や中国および米国の献血者からの SARS-CoV-2 RNA 陽性者が報告されていることから、原料血漿にウイルスが混入するリスクは否定できない。そこで原料血漿中にウイルスが混入した場合を想定し、血漿分画製剤の不活化法と同様な 60°C の液状加熱処理(キャップ裏側に残存するウイルスの影響をなくすために 60°C の温浴に沈めた)の影響を検討した結果、60°C 30 分処理でウイルスは検出限界以下となることが分かり、変異株についても同様であった。

[野島清子、濱口功、岡田義昭(埼玉医大)]

4) 日本人妊婦からの HTLV-2 の国内感染株の発見

日本は HTLV-2 の非流行国であると考えられている。妊婦健診で実施される HTLV 検査で確認検査(LIA 法)の結果、HTLV-2 感染と判定された妊婦の末梢血単核球の DNA で qPCR による HTLV-2 核酸検出を試みたところ、HTLV-2 核酸が検出された。HTLV-2 ゲノムを特異的 Primer で PCR 増幅し、サンガーシーケンス法で全長のプロウイルスゲノムを解析したところ、全長 8960 塩基対のゲノムが決定された(LC534557)。コード領域の系統樹解析の結果、HTLV-2a と c の間に位置する株であり、また LTR 領域の解析では HTLV-2c により近い株

であることが明らかになった。感染経路については不明であった。本例は、日本人から遺伝子レベルで HTLV-2 感染が確認された最初の例である。

[倉光球、大隈和、堀谷まどか(慈恵医大)、関塚剛史(病原体ゲノム解析センター)、黒田誠(病原体ゲノム解析センター)、濱口功]

5) HTLV-1 感染伝播における細胞内因子 M-Sec の機能解明

HTLV-1 の感染様式は、主に細胞間感染である。細胞間感染は細胞同士が物理的に接触して感染するため、抗体や抗ウイルス剤のアクセスが困難となり、ウイルスの潜伏化の一因と考えられる。そのため、細胞間感染の分子メカニズムの解明は、体内における HTLV-1 感染伝播の抑制法を確立するために重要である。これまでの研究で、細胞内因子 M-Sec は、正常 T 細胞では発現しないが、HTLV-1 感染 T 細胞では異所性発現すること明らかにしていた。さらに本研究によって、M-Sec は、HTLV-1 感染 T 細胞において、(1)遠隔の細胞同士を物理的に接着させる細胞膜ナノチューブ形成の促進、(2)細胞運動の亢進、(3)HTLV-1 gag タンパク質の局在の制御、を行うことによって HTLV-1 の感染伝播を促進することがわかった。現在、独自に同定している M-Sec 阻害剤 NPD3064 の抗 HTLV-1 剤としての可能性を検討している。

[日吉真照、高橋尚史(熊本大)、野依修(立命館大)、鈴木忠樹(感染病理部)、大野博司(理化学研究所)、佐藤賢文(熊本大)、安永純一郎(熊本大)、松岡雅雄(熊本大)、宇都宮興(今村総合病院)、鈴伸也(熊本大)]

6) HTLV-1 Env 蛋白質 N93D 変異体とニューロピリン 1(Nrp1)b1 の分子間相互作用解析

HTLV-1 Env 蛋白質の残基 90-94 の領域はニューロピリン 1(Nrp1)の結合に関与している。この領域の 93 番目のアスパラギンがアスパラギン酸に置換された変異(N93D)がブルジルアマゾンでの HTLV-1 感染症候性患者で見られる。本研究では、この N93D 変異が Nrp1 b1 との結合にどの様に影響するかを Env ペプチド(残基 85-94)を用いて調べた。その結果、N93D 変異体は、wild-type より 2 倍強く Nrp1 b1 と結合することが明らかになった。また、N93D 変異体との相互作用において、Nrp1 b1 の Trp301, Lys347, Glu348, Thr349 の 4 残基の NMR シグナルが wild-type と比較してより大きな化学シフト変

化を示した。これら4残基は Nrp1 b1 の同じ表面上にあることから、N93D 変異体の Asp93 残基が、Nrp1 b1 の上記4残基を介して、Nrp1 b1 と強く結合すると考えられる。

[楠英樹、大島千夏、濱口功]

7) 組換え VSV を用いた HTLV-1 感染制御法の開発

HTLV-1 感染の制御を目的として、これまで細胞溶解性ウイルスである水疱性口内炎ウイルス(VSV)を用いて HTLV-1 感染細胞を標的化し溶解・死滅させる治療法の開発に取り組み、HTLV-1 受容体を発現した組換え VSV が HTLV-1 感染ヒト化マウスにおいて有効であることを見出している。本治療法の実用化を目指し、前臨床試験としての非ヒト霊長類感染モデルにおける組換え VSV の薬効評価に向け *in vitro* での検証を行ったところ、HTLV-1 と遺伝的にも機能的にも高い相同性を有するニホンザル STLV-1 の受容体を発現させた組換え VSV は *in vitro* において STLV-1 Env 発現細胞を標的化し殺傷することができ治療効果を示した。このことから、HTLV-1 感染に対するウイルス療法の開発に向けて、STLV-1 感染ニホンザルでの本組換え VSV の薬効評価が可能であることが示唆された。

[関洋平、大隈和、手塚健太、倉光球、水上拓郎、明里宏文(京都大)、濱口功]

8) サル組織を用いた HTLV-1 水平感染様式の解明

HTLV-1 の水平感染様式解明に向け、ヒト由来の生殖器官サンプルを用いて解析を行うことは非常に困難であるため、HTLV-1 と類似した特徴を有する STLV-1 自然感染ニホンザルを用いて解析を進めている。感染サルの生殖器官におけるプロウイルス DNA 量を測定したところ、脾臓に加えて卵巣や膣において高い PVL が検出され生殖器官におけるウイルス感染が認められた。さらに組織学的な解析を行うため、STLV-1 のプラス鎖およびマイナス鎖 mRNA 検出用プローブ(pX/SBZ probe)を構築し、組織中の mRNA を超高感度に検出・視覚化可能な技術である RNA *in situ* ハイブリダイゼーション(ISH)法の確立を行った。感染サル由来脾臓を用いて解析したところ、いずれのプローブにおいてもウイルス RNA が検出され、STLV-1 を標的とする ISH 法が機能していることが示された。このことから、STLV-1 感染サルは水平感染様式解明のための動物モデルとして有用であると考えられ、現在、確立した ISH 法を用いて解析を進めている。

[関洋平、手塚健太、平舘裕希、水上拓郎、倉光球、大隈和、村田めぐみ(京都大)、明里宏文(京都大)、濱口功]

9) 臨床応用を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤の開発に関する研究

日本赤十字社と協力し、抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンに HTLV-1 感染予防効果があることを、*in vitro* 及びヒト化マウスを用いて明らかにしてきた。また、製剤のウイルス安全性について評価し、スパイク実験等を行い、ウイルスの各分画中の存在、感染率を明らかにし、当該製剤の製造過程でウイルスが完全に除去・不活化され、最終製品においても感染性は認められないことが明らかとなった。更に、京都大学の霊長類研究所と共同で、ニホンザル STLV-1 をモデルとして感染防御能を検証するための疫学調査、投与実験に薬理試験に関する背景データを取得し、その安全性・有効性について検証した。その結果、HTLV-IG の投与による副反応や安全性に関し、懸念となることは発生しなかった。また、有効性に関し、効果を示唆するデータを得られつつある。

[野島清子、明里宏文(京都大)、佐竹正博(日本赤十字)、蕎麦田理英子(日本赤十字社)、森内浩幸(長崎大)、斉藤滋(富山大)、内丸薫(東京大)、濱口功、水上拓郎]

10) ヒト化マウスを用いた HTLV-1 母子感染モデルの構築

妊娠中のヒト化マウスに PBMCs を事前に移植し、さらに HTLV-1 感染細胞である MT-2 (MMC 処理済) を移植することで、感染細胞が新生仔マウスにおいて検出可能な HTLV-1 母子感染モデルの開発に成功した。出生前の胎仔および胎盤のウイルスの PCR および感染細胞の局在解析から、HTLV-1 感染細胞が胎盤および胎仔の肝臓に分布している一方、血中には検出されることが明らかとなった。また出生前の胎仔における HTLV-1 の感染率から、出生前および出生後の母乳感染のリスクを推定できることが明らかとなり、この方法を用いることで、HTLV-IG 投与による胎盤感染、経膣感染のリスク軽減が可能であることが確認された。

[野島清子、明里宏文(京都大)、内丸薫(東京大)、濱口功、水上拓郎]

11) キャリア妊婦における HTLV-1 経胎盤感染の実態解明の試み

HTLV-1 の主要な感染経路は母乳を介した垂直(母子)感染、

あるいは性交渉を介した水平感染であることが知られている。母子感染については母乳栄養ではなく人工栄養を選択することで母子感染率が著減することが明らかになっているが、人工栄養でも 2~3%の割合で母子感染が成立することから、母乳以外の母子感染経路の可能性が示唆されている。キャリア妊婦の母体血、胎盤組織、臍帯血を対象に検討したところ、現在までに 254 例中 約 55%にあたる 140 例の胎盤絨毛組織から HTLV-1 プロウイルスを検出した。この 140 例のうち、臍帯血中にも HTLV-1 プロウイルスを検出したのは約 4%にあたる 6 例であった。母子感染が成立しなかった児の母親の胎盤にはプロウイルスが検出されないのに対し、母子感染が成立した児の母親の胎盤では全例で HTLV-1 プロウイルスが検出された。母乳以外の母子感染経路として子宮内や産道感染が考えられているが、本研究においては胎盤組織を介した経胎盤感染の可能性について検討を進めている。

[手塚健太、淵直樹 (長崎大)、三浦清徳 (長崎大)、大隈和、倉光球、水上拓郎、佐々木永太、松岡佐保子、濱口功]

12) HTLV-1感染による血液胎盤バリア破綻機序の解析

HTLV-1 キャリアの臨床的な知見から、妊娠中の胎盤を介した胎内感染経路の存在が示唆されている。母体と胎児は胎盤内の血液胎盤関門によって隔てられ、栄養素以外の生体物質の移動は厳密に制限されている。一方で種々のウイルス感染によって血液胎盤関門のバリア機構が破綻することが知られている。胎盤内の血液胎盤関門を構成する細胞群(栄養膜細胞、間葉系細胞、血管内皮細胞)の HTLV-1 感受性を検討したところ、他の細胞と比較して、栄養膜細胞において極めて高い感受性が確認された。この感受性は受容体分子の発現量に依存すると考えられた。さらに HTLV-1 感染栄養膜細胞はウイルス抗原を高発現しており、HTLV-1 感染栄養膜細胞を投与したヒト化マウスでは全例で HTLV-1 感染が成立した。栄養膜細胞は胎盤における HTLV-1 の主要な標的であり、経路胎盤感染に関与する可能性が示唆された。

[手塚健太、淵直樹 (長崎大)、三浦清徳 (長崎大)、大隈和、倉光球、松岡佐保子、濱口功]

13) 次世代HTLV-1感染ヒト化マウスモデルの開発

生体内での HTLV-1 感染細胞の制御には HTLV-1 特異的 CTL が重要な役割を演じているものの、従来型のヒト化マウスモデルでは個体内での CTL を含むウイルス特異的免疫応答

は限定的であり、感染細胞の増殖制御は極めて困難であった。近年、HLA 分子を導入することでヒト化マウス個体内にヒト型免疫応答を誘導可能であることが実証され感染症研究においてもその応用が期待されている。研究課題では、HLA 分子を導入した次世代ヒト化マウスを用いて、ヒト型免疫応答能を再現する革新的な HTLV-1 感染ヒト化マウスモデルの確立を目的とする。本年度までに、HTLV-1 を感染させた一部の個体では HLA 拘束性の抗 HTLV-1 ヒト型免疫が誘導されることを確認した。実験動物中央研究所と共同研究契約を締結し、個体の産生・表現系解析・知財管理を実施している。

[手塚健太、大隈和、松岡佐保子、伊藤守(実中研)、濱口功]

14) HTLV-1水平感染者に特異的な抗体の性状解析

HTLV-1の水平感染と考えられるHTLV-1キャリア(抗体陽転者)では血中ウイルス量が母子感染と考えられるHTLV-1キャリア(持続感染者)よりも低値を示し、HTLV-1関連疾患の発症リスクも低い可能性が示唆されている。HTLV-1キャリア血中におけるHTLV-1特異的抗体の抗原認識部位を検討したところ、持続感染者ではほとんど検出されないが、抗体陽転者が全例で保有する特徴的な抗体が存在することが明らかになった。このような抗体はHTLV-1エンベロープタンパク質の主要な中和ドメインを認識し、in vitroで高い中和活性を有することが示されているが、生物・物理的な特性は未解明な部分が多い。本研究では水平感染者より目標の抗体を単離・精製し、詳細に性状解析することによって、HTLV-1感染制御における抗HTLV-1抗体の生理的意義の解明や将来の感染予防法開発への応用を目指し検討している。

[手塚健太、倉光球、相良康子(日本赤十字社)、高起良(大阪鉄道病院)、高橋宜聖(免疫部)、多田稔(国衛研)、池辺詠美、大隈和、松岡佐保子、濱口功]

15) 小胞体ストレス誘導を標的とした新規 HTLV-1 感染症治療薬の開発

HTLV-1 感染症に対する新規治療薬の開発から、HIV インテグラーゼ阻害剤 MK-2048 が HTLV-1 感染細胞特異的に Unfolded Protein Response(UPR)の PERK 経路を活性化し、小胞体ストレス依存性細胞死を誘導することを見出した。さらに、HTLV-1 キャリア検体を用いた解析から HTLV-1 感染細胞では、UPR の制御因子である小胞体シャペロン GRP78 の発現低下が認められ、小胞体ストレスに対して脆弱である事が示唆

された。そこで、小胞体ストレス誘導を標的として、PERK 経路活性化剤を中心に抗 HTLV-1 効果を示す薬剤について検討を進め、nM オーダーで感染細胞の増殖を抑制する低分子加化合物 TU-A を見出した。現在は TU-A の抗 HTLV-1 効果について、モデルマウスでの検証を進めている。

[池辺詠美、松岡佐保子、手塚健太、倉光球、佐藤結子、山岸誠(東京大)、親泊政一(徳島大)、内丸薫(東京大)、瀨口功]

16) HTLV-1 ぶどう膜炎の発症機序と病態の解明

HTLV-1 感染は全身の諸臓器に様々な病変を生じるが、HTLV-1 感染者の約 0.1% にぶどう膜炎を引き起こす。HTLV-1 ぶどう膜炎は女性に多く、一部に甲状腺機能亢進症の既往があることが知られているが、その原因は解明されていない。HTLV-1 感染細胞株と網膜色素上皮細胞株の共培養後の上清で IL-6, IFN γ , TNF α の産生が認められた。共培養による IFN γ の産生は甲状腺機能亢進症治療薬 Methimazole の添加により増強し、ぶどう膜炎の病態に甲状腺機能亢進症治療薬が関与している可能性が示唆された。

[松岡佐保子、池辺詠美、手塚健太、倉光球、鴨居功樹(東京医科歯科大)、瀨口功]

4. 血液製剤の安全性確保に関する研究

1) オンライン輸血製剤副反応情報収集システムを用いたヘモビジランス(血液安全監視)研究

輸血製剤の副反応把握システムの確立は、安全性の確保や、製剤を導入している様々な国の施策を評価する上で極めて重要である。そこで 2007 年より輸血製剤による副反応情報を収集するオンラインシステムを立ち上げ、全国の医療機関に参加協力を依頼している。参加機関は、2ヶ月ごとに、赤血球、血小板、血漿の 3 製剤の製剤別使用数、副反応件数とその症状・診断を報告し、感染研にて解析を実施している。本年度は、2019 年 1 月から 12 月までの 35 病院のデータを集計し解析結果を日本輸血・細胞治療学会 HP にて報告した。血小板製剤の副反応発生率は 1.79% と高率であったものの、例年(2%~3%)と比較すると低い数字であり日赤の洗浄血小板製剤の販売開始による洗浄血小板製剤使用率増加の効果である可能性が示唆された。

[池辺詠美、松岡佐保子、瀨口功]

2) 輸血の安全性向上を目指したトレーサビリティの確保され

た新規血液製剤情報収集システムの開発

本研究では日本における輸血副反応の全容を可能な限り正確に把握することを目指し、日本赤十字社における供血者の選択から医療機関における受血者の転帰までの Blood transfusion chain を全てトレース可能なヘモビジランスシステムの構築を進めている。新システムの普及拡大には輸血を実施している各医療機関が簡易なシステムでデータを提供できる環境の構築が重要と考え、各医療機関と日本赤十字社からの輸血データ収集ならびに集計情報作成を容易に行う集積環境を新規に構築し、パイロットスタディを繰り返し実施し改良を重ねた。2021 年度より、全国の医療機関を対象に新システムを用いた輸血情報収集を開始する環境が整備できた。

[松岡佐保子、池辺詠美、瀨口功]

3) 海外の原料血漿採取方法の安全性に関する研究

血漿分画製剤の世界的な需要の増加に伴い必要とされる血漿量も増加している。我が国では、血液法で定めた血液製剤の安全性の向上・安定供給の確保を図るための基本的な方針に従い、厚生労働大臣が毎年血液製剤の安定供給に関する需給計画を定め、製造販売業者への配分している。近年グロブリン製剤の適応が拡大して世界的に血漿分画製剤の需要が益す中であって、いかに原料血漿を確保するか、安全性を確保するかは重要な課題である。本研究では、各国の状況を把握するために国内外での法令等で規定されているドナースクリーニングに関する内容を整理し、さらに日本へ輸入される製剤の原料血漿の採漿センターにアンケート調査を行うことにより、安全対策の一環として分画用原料血漿にどのような感染症マーカーのスクリーニングをどのような文書に基づいて実施しているのか、またはボランティアに実施しているのか等、血漿分画製剤の安全性確保の実態を調査し、我が国の血漿分画製剤の安定供給と安全性向上の方策に役立てた。

[野島清子、河原和夫(東京医科歯科大)]

5. SARS-CoV-2 に関する検査業務

1) 新型コロナウイルス核酸検査(全所対応)

村山庁舎の新型コロナウイルス核酸検査に協力し、検体処理班、試薬調整班、事務処理班等の工程のシフトに入り、検疫所等から感染研に検査依頼された検体に対して、核酸検査のそれぞれの工程を実施した。

[倉光球、手塚健太、斎藤益満、池辺詠美、松岡佐保子、

佐々木永太、百瀬暖佳、谷生道一、水上拓郎、楠英樹、大隈和、濱口功]

2) 回復者血漿の SARS-CoV-2 に対する安全性確認のための核酸検査(1)

COVID-19 の治療法開発のため、国立国際医療研究センター(NCGM)が中心となり、日本赤十字社、国立感染症研究所が協力する形で、COVID-19 回復者血漿療法の臨床研究がスタートした。当部は、COVID-19 回復者の抗体価スクリーニング時および血漿採漿時の血漿に対して SARS-CoV-2 核酸検査を実施し、血漿の SARS-CoV-2 に対する安全性についての評価を担当した。血漿 2ml から核酸を抽出し、CDC_N2 および NIID_N2 法の 2 法にて RT-PCR で核酸検査した。2021 年 3 月末までに NCGM の回復者血漿のスクリーニング検体 568 件、採取した回復者血漿 172 件について、全 110 回の SARS-CoV-2 の核酸検査を実施し、結果を報告した。

[倉光球、手塚健太、池辺詠美、佐々木永太、百瀬暖佳、忽那賢志(NCGM)、佐竹正博(日本赤十字社)、濱口功]

3) 回復者血漿の SARS-CoV-2 に対する安全性確認のための核酸検査(2)

COVID-19 の治療法開発のため、慶應義塾大学が中心となり、日本赤十字社、国立感染症研究所が協力する形で、COVID-19 回復者血漿療法の臨床研究がスタートした。2021 年 3 月までに慶應義塾大学関連医療施設からの回復者血漿に関し、当部で SARS-CoV-2 の核酸検査を実施し、SARS-CoV-2 に対する安全性を評価するための体制を整備した。

[倉光球、手塚健太、池辺詠美、佐々木永太、百瀬暖佳、田野崎隆二(慶應大)、佐竹正博(日本赤十字社)、濱口功]

4) 新型コロナウイルス感染者における中和活性の評価に関する研究(全所対応)

厚生労働省および国立感染症研究所では、SARS-CoV-2 の感染動態を調査するため大規模血清疫学調査を開始した。当部も本調査に参加・協力し、各種検体を収集し、SARS-CoV-2 の N 抗体を測定した後に、Microneutralization 法により中和活性を測定している。また、英国株、南アフリカ株、ブラジル株等の新規変異株に対する中和能の変化についても随時、検証している。引き続き、大規模血清疫学調査に協力し

ている。

[水上拓郎、大隈和、野島清子、関洋平、濱口功]

II. 品質管理に関する業務、研究

1. 血液製剤

1) 血液製剤へのサマリーロットプロトコール(SLP)審査制度の導入に向けた検討

製造・試験記録要約書(サマリーロットプロトコール(SLP))審査制度の 2021 年 7 月からの施行を目指し、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課と血液製剤メーカーの協力を得て、法令上の運用について最終確認を行った。血液製剤は、中間体原薬(MF)を原料としてほぼすべて種類の小分製品が連産されることがあるため、これまでに運用されているワクチン製剤の原薬とは状況が大きく異なることが分かり、軽微変更や一部変更承認に係る MF 別冊の様式変更、小分製品の様式変更について整理した。また施行期間中にほぼすべての製剤において施行が実施出来る様、適宜本省および血液製剤メーカーと会合を持った。

[野島清子、大隈和、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、楠英樹、佐々木永太、斉藤益満、水上拓郎、石井孝司(品質保証・管理部)、落合雅樹(品質保証・管理部)、内藤誠之郎(品質保証・管理部)、藤田賢太郎(品質保証・管理部)、手塚健太、濱口功]

2) 血液製剤へのサマリーロットプロトコール (SLP) 電子審査システムの開発に向けた検討

血液製剤への SLP 審査制度導入が 2019 年 7 月より試行された。血液製剤はその製造の特性上、複雑な製造工程に加え、原料血漿から多くの製品が製造されることからワクチンに比べ SLP の審査項目が増加することが予想されている。また原材料が複数の製品で用いられることから、原料や中間段階のトレーサビリティを確保することも必要である。これらの課題に対処するためには、SLP 審査の電子化を導入することが必要であると考え、各社 SLP 様式案を元に、電子審査する方法・内容等について検討し、構築システム概要等について確定した。2021 年 7 月の施行に向けて、公示・入札するための仕様書の確定し、入札手続きを進め、最終的に開発業者が決定した。

[水上拓郎、野島清子、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、
佐々木永太、斉藤益満、大隈和、濱口功]

3) 抗HBs人免疫グロブリン製剤力価試験の試験法の変更についての検討

抗HBs人免疫グロブリン製剤の抗体価測定法は生物学的製剤基準により「放射免疫測定法」及び「酵素免疫測定法」が定められている。一方、検査施設等の抗HBs抗体価の測定には、高感度の「化学発光免疫測定法」等が導入されている。そこで製剤製造所との共同測定を実施し、「化学発光免疫測定法」等が生物学的基準法に定められている測定法と同等以上の精度で抗HBs抗体価を測定可能であることを確認した。生物学的製剤基準について「化学発光免疫測定法」等での抗体価測定を可能とする変更の手続きを進めている。

[池辺詠美、松岡佐保子、佐藤結子、濱口功]

4) 血液型判定用抗体参照品の新規ロット制定のための品質評価

血液型判定用抗体参照品(①参照抗A抗体(256倍)、
②参照抗B抗体(256倍)、③参照抗D抗体(64倍)(食塩液凝集試験用)、④参照抗D抗体(64倍)(アルブミン液凝集試験用)、⑤参照抗ヒトグロブリン抗体の5品目)は感染研における国家検定、収去試験、承認前試験における使用、および血液型判定用抗体の製造業者からの交付申請に応じて交付する事を目的として作製されている。

現行品の使用期限が2021年3月31日であるため、2021年度からの交付に向けて、新規ロットの候補品を製造し、最終製品の先行サンプルを用いて、①特異性試験、②凝集価試験、③凝集力試験の品質評価試験を実施した。

当該参照品は2021年4月より国内向けに交付を開始している。

[池辺詠美、松岡佐保子、佐藤結子、濱口功]

5) 乾燥濃縮人 α 1-プロテイナーゼインヒビターの承認前試験

(1) 生物活性試験、比活性試験

当該製剤について生物活性試験、比活性試験を生物学的製剤基準に従って実施した。試験成績は、提出された全3ロットにおいて基準を満たしていた。

[池辺詠美、松岡佐保子、佐藤結子、濱口功]

(2) たん白質含量試験、含湿度試験

当該製剤について、たん白質含量試験と含湿度試験を実施した。

[楠英樹、日吉真照、濱口功]

(3) 異常毒性否定試験

当該製剤について異常毒性否定試験を生物学的製剤基準の一般試験法に従って実施した。試験成績は、提出された全3ロットにおいて基準を満たしていた。

[池辺詠美、水上拓郎、古畑啓子、佐藤結子、今井恵子、濱口功]

6) ヒスタミン加人免疫グロブリン(乾燥)製剤の新規ヒスタミン含量試験法の確立に関する研究

厚生省薬務局長通知「保存血液等の抜き取り検査実施要領」における、ヒスタミン加人免疫グロブリン(乾燥)製剤の「ヒスタミンの確認試験」が、令和2年8月7日の改定により、当部とメーカーの共同研究により開発した液体クロマトグラフ法を用いた「ヒスタミンの定量試験」に変更された。本試験法ではヒスタミン抽出に煩雑な操作が含まれるため、操作毎のバラツキを補正するための内標準物質の探索を行った。その結果、1-(3-Aminopropyl)-2-methyl-1H-imidazoleが適切な候補物質と考えられたため、今後、抽出効率や再現性等について検証を行う。

[谷生道一、楠英樹、濱口功]

7) 血液製剤の異常毒性否定試験の省略に関する検討

血液製剤の異常毒性否定試験は、2005年に国家検定から廃止されており、現在は製造所における自家試験のみが引き続き実施されている。今般、ワクチン製剤において、主要ワクチン5製剤に関し、異常毒性否定試験の回数制限規定が検討・導入され、一定数のロットについて、連続した適合性が認められれば、以降については省略可能となった。2021年7月より血液製剤においてもSLP制度が本施行され、品質管理が強化されることから、血液製剤に関しても、異常毒性否定試験の省略が可能であるか検討を進め、検定廃止以降過去16年間の結果を精査した結果、対象製剤全てにおいて「不合格」はなく、試験結果により検定申請が不適となったロットもなく、再試験率も低く、試験成績も安定していたこと、さらに病理検査等による異常所見等の報告もなかったことから、今後、異常毒性否定試験を廃止しても問題がないことが確認された。

2021年2月の当委員会で結果を報告し、厚生労働省にも報告した。

[池辺詠美、水上拓郎、松岡佐保子、大隈和、濱口功]

8) アンチトロンピン III および乾燥イオン交換樹脂処理ヒト免疫グロブリン製剤におけるウサギ発熱試験の検定基準削除の検討

ウサギ発熱試験は生物学的製剤基準の一般試験法に記載され、ワクチン等及び血液製剤の安全性試験、品質管理試験として長年にわたり実施されている。現在その多くがエンドトキシン試験に置き換えられ、一部の製剤はその試験成績が安定していることから検定基準から削除されている。今回、ウサギ発熱試験を実施している製剤のうち、アンチトロンピン III および乾燥イオン交換樹脂処理ヒト免疫グロブリン製剤について、過去の自家試験記録ならびに国家検定成績を精査した。その結果、承認以降ウサギ発熱試験で不合格となったロットはないことから、検定による試験のダブルチェックは不要と考えられた。検定基準廃止案として業務運営委員会ならびに検定協議会に諮り、承認された。

[佐々木永太、水上拓郎、濱口功]

2. ワクチン製剤

1) SARS-CoV-2 ワクチン(ファイザー社、モデルナ社、アストラゼネカ社)の承認前検査の実施

当該製剤(ファイザー社、モデルナ社、アストラゼネカ社)について、pH 試験を実施した。

[楠英樹、谷生道一、濱口功]

2) 沈降 13 価肺炎球菌結合型ワクチン(無毒性変異ジフテリア毒素結合体)におけるアルミニウム含量試験(誘導結合プラズマ発光分光分析法)の削除に関して

沈降 13 価肺炎球菌結合型ワクチン(無毒性変異ジフテリア毒素結合体)の国家検定の 1 つとして、アルミニウム含量試験(誘導結合プラズマ発光分光分析法)が実施されてきた。今回、本製剤において、過去7年間(2013年～2019年)に製造所が実施してきた自家試験成績と国家検定成績を比較したところ、両成績は良く一致していた。また、再現性・安定性の観点からも当該試験を国家検定としてダブルチェックする必要性は低いと考えられた。検定基準廃止案として業務運営委員会ならびに検定協議会に諮り、承認された。

[百瀬暖佳、谷生道一、楠英樹、濱口功]

3) 生物学的製剤基準の改正に伴う異常毒性否定試験の省略について

生物学的製剤基準の改正に伴い、肺炎球菌ワクチン(23 価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン)、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン、インフルエンザ HA ワクチンに関しては、異常毒性否定試験の省略が可能となった。そこで、対処製剤の製造販売業者より提出された必要数のロットの連続した試験結果のリストを精査し、試験省略の条件を満たすことを確認して省略の手続きを行った。

[池辺詠美、水上拓郎、濱口功]

III. ワクチン開発および評価法開発に関する研究

1) SARS-COV-2 mRNA ワクチン (Pfizer) 接種者における有効性および安全性に関する研究

SARS-COV-2 は 2019 年に中国で発生した後、パンデミックとなり世界規模で感染拡大した。2020 年末には新規モダリティである mRNA ワクチンが開発され、日本でも 2 月に Pfizer 社製の mRNA ワクチン(コリナティ筋注)が承認され、国立病院機構 村山医療センターでも接種が開始された。そこで村山医療センターと共同研究を開始し、1 回目接種後 20 日前後の血液より血清を分離し、非動化した後、Microneutralization 法により SARS-CoV-2 に対する中和抗体価を測定した。今後、2 回目接種後 20 日前後および 100 日前後の検体の中和活性についても測定し、抗体推移について検証する予定である。また、接種後血清を用い OMICS 解析をすることで、mRNA ワクチン接種後の安全性評価に資するバイオマーカーを探索する。

[水上拓郎、野島清子、関洋平、吉原愛雄(村山医療センター)、濱口 功]

2) インフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価法構築へ向けた試み

インフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価法の構築を目指し、マーカー遺伝子の発現変動をルシフェラーゼ活性でモニターするレポーター細胞株を樹立して評価した。全粒子ワクチン処理によってルシフェラーゼ活性の有意な亢進を認めた

が、活性のピークが従来法よりも1日遅くなり、全体的な所要期間が延長した。高感度な遺伝子発現解析法として、従来のリアルタイムPCR法の簡便化も検討している。

[百瀬暖佳、佐々木永太、水上拓郎、濱口功]

3) ゲノミクス技術を駆使したスクリーニングシステムによる新規ワクチンアジュバントの同定と作用機序解析

これまでに肺のバイオマーカー遺伝子発現プロファイルを解析することで、アジュバントの有効性と安全性を一部予測可能であることを明らかにしている。ドラッグリポジショニングの概念により、既承認薬や医薬品添加物を用いて、アジュバント活性のある化合物の探索を行ったところ、経鼻インフルエンザワクチンおよび新型コロナウイルスワクチンで強力なIgA抗体産生誘導能を持つ化合物の同定に成功した。現在、アジュバント作用の鍵となるサイトカイン分泌機序や抗原提示増強機能に着目して、作用機序の解明を行っている

[佐々木永太、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）、百瀬暖佳、水上拓郎、濱口功]

4) 水酸化アルミニウム (alum) 含有経鼻ワクチンにおけるIL-33の機能解析

Interleukin (IL)-33は2型自然リンパ球 (ILC2) の活性化を介してTh2細胞免疫を誘導し、IgE等の抗体産生等に寄与することが知られている。古くからヒト用ワクチンに使用されているalumは、経鼻接種ワクチンに添加することで顕著なIgA抗体産生を誘導することを見出したが、その作用機序として肺上皮細胞からのIL-33分泌と、それに続くILC2の活性化が関与することを見出した。また、alum投与によって肺胞中にdsDNAやIL-1 α などの免疫賦活化因子が多く放出されるが、これらのIgA抗体産生誘導の影響は小さいことを見出し、IL-33の重要性が示された。

[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、審良静男(大阪大)、濱口功]

5) アジュバント全身投与時の肺における形質細胞様樹状細胞 (pDC) の動態とその機能解明

これまでに全粒子不活化インフルエンザワクチンや、1型interferon (IFN) 誘導型アジュバントをマウスに全身投与（腹腔内投与あるいは筋肉内投与）することで、肺にpDCを集簇させ、粘膜感作抗原に対してアジュバント作用を示すことを明

らかにしている。本年度は、CXCR3中和抗体によるブロックングにより、上記のアジュバント作用が消失すること、1型IFNシグナルがCXCL9/10/11発現誘導に必須であることを見出した。さらに、インフルエンザウイルス感染実験により、1型IFN誘導型アジュバントの全身投与が粘膜感作ワクチンの防御効果の増強に働くことを明らかにした。

[佐々木永太、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）、百瀬暖佳、水上拓郎、濱口功]

6) グルタチオン (GSH) 枯渇によるワクチン免疫調整機構の解明

GSHは細胞内の酸化ストレス軽減に寄与する重要なトリペプチドである。免疫細胞のGSH変動はサイトカイン分泌や抗原提示能に影響を与えることが示唆されている。GSHを免疫後一定期間低下させたマウスでスプリットインフルエンザワクチンのIgG抗体産生が増強されることを見出した。さらにこの現象は、経鼻接種では認められず、筋肉内注射で顕著に認められることを見出した。

[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、濱口功]

7) アジュバントとしてのI型インターフェロンとキトサンとの相乗作用について

ジフテリアトキソイドを抗原にI型インターフェロン (IFN) とキトサンをアジュバントとして同時経鼻投与すると、これらアジュバントが相乗的に抗体産生を増強させることを報告してきた。その機構を調べるため、これら間に直接相互作用が存在するか検討をはじめた。そのためにまずマウスの骨髄細胞を使用して予備実験を行った。IFN単独またはキトサンとの混合物を細胞に添加し、24時間後のIFN γ 産生を測定したところ有意差は得られなかった。一方、これらの混合物は沈殿が生成する可能性があるため、遊離IFNの遠心での分離を試みている。

[前山順一]

IV. 国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前検査等の実績

1. 国家検定

血液製剤力価試験: 56試験

(血液凝固第Ⅷ因子力価試験: 22、アンチトロンビンⅢ力価試

験:12、活性化血液凝固第 VII 因子力価試験:1、血液凝固第 X 因子力価試験(APTT 法):1、血液凝固第 II 因子力価試験:3、血液凝固第 VII 因子力価試験:3、血液凝固第 IX 因子力価試験:3、血液凝固第 X 因子力価試験(PT 法):3、プロテイン C 力価試験:3、乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット、ポリエチレングリコール処理抗 HBs 人免疫グロブリン:1 ロット、乾燥抗 D(Rho)人免疫グロブリン:2 ロット)
免疫グロブリン G 重合体否定試験:119 ロット
抗補体性否定試験: 62 ロット
含湿度試験:112 ロット
たん白質含量試験(ローリー法):1 ロット
たん白窒素含量試験:3 ロット
凝固性たん白質含量及び純度試験:9 ロット
アルミニウム含量試験(ICP):6 ロット
フェノール含量試験:10 ロット
クエン酸ナトリウム含量試験:2 ロット
MPL 含量試験:1 ロット
MPL 含量試験(HPLC 法):1 ロット
QS-21 含量試験(HPLC 法):1 ロット
異常毒性否定試験:61 ロット
発熱試験:17 ロット
人ハプトグロビン力価試験:6 ロット

2. 抜き取り検査

血液凝固第 IX 因子力価試験:4 ロット
活性化凝固因子否定試験:4 ロット
たん白窒素含量試験:4 ロット
含湿度試験:2 ロット
pH 試験:2 ロット
ヒスタミン確認試験:1 ロット
ヒスタミン含量試験(HPLC 法):1 ロット

3. 依頼検査

たん白質含量試験(ローリー法):2 ロット
異常毒性否定試験:5 ロット

4. 行政検査

異常毒性否定試験(黄熱ワクチン):2 ロット

5.承認前検査

含湿度試験:3 サンプル
たん白質含量試験:3 サンプル
pH 試験:6 サンプル
生物活性試験:3 ロット
比活性試験:3 ロット

6. 総合判定

(国家検定項目)

乾燥人フィブリノゲン:8 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子:22 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビン III:12 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子:1 ロット
乾燥濃縮人プロトロンビン複合体:3 ロット
筋注用人免疫グロブリン:3 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン:3 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン:62 ロット
pH4処理酸性人免疫グロブリン:14 ロット
PEG 処理人免疫グロブリン:30 ロット
乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン:54 ロット
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン:1 ロット
pH4処理酸性人免疫グロブリン(皮下注射):16 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン:1 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン:1 ロット
乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット
PEG 処理抗 HBs 人免疫グロブリン:1 ロット
乾燥抗 D (Rho)人免疫グロブリン:2 ロット
人血清アルブミン:121 ロット
加熱人血漿たん白:4 ロット
人ハプトグロビン:6 ロット

(抜き取り検査)

ヒスタミン加人免疫グロブリン:2 ロット
乾燥濃縮人血液凝固 IX 因子:4 ロット

7. 体外診断用医薬品の承認前検査

B型肝炎ウイルス表面抗原、1件:3 ロット
C型肝炎ウイルス抗体、1件:3 ロット

国際協力関係業務・研修業務

1) 2020 年6月12日:新規者向け検定・検査教育講習会にお

いて、「血液製剤の検定」の講義を行った。

[大隈和]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Tanio M, Nakamura T, Kusunoki H, Ideguchi K, Nakashima K, Hamaguchi I, Validation of HPLC method for the determination of histamine in human immunoglobulin formulations, 2020, *J AOAC Internat*, 105(5): 1223-1229, doi: 10.1093/jaoacint/qsaa017.
- 2) Ikebe E, Matsuoka S, Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Nakashima M, Seiichiro Kobayashi S, Makiyama J, Yamagishi M, Oyadomari S, Uchimaru K, Hamaguchi I, Activation of PERK-ATF4-CHOP pathway as a novel therapeutic approach for efficient elimination of HTLV-1-infected cells, 2020 *Blood adv*, May 12; 4(9):1845-1858. doi: 10.1182/bloodadvances.2019001139.
- 3) Murata M, Yasunaga J-I, Washizaki A, Seki Y, Kuramitsu M, Keat TW, Hu A, Okuma K, Hamaguchi I, Mizukami T, Matsuoka M, Akari H, Frequent horizontal and mother-to-child transmission may contribute to high prevalence of HTLV-1 infection in Japanese macaques, 2020, *Retrovirology*, Aug 24; 17(1):15, doi: 10.1186/s12977-020-00525-1.
- 4) Saito M, Hasegawa H, Yamauchi S, Nakagawa S, Sasaki D, Nao N, Tanio M, Wada Y, Matsudaira T, Momose H, Kuramitsu M, Yamagishi M, Nakashima M, Nakahata S, Iha H, Ogata M, Imaizumi Y, Uchimaru K, Morishita K, Watanabe T, Miyazaki Y, Yanagihara K. A high-throughput detection method for the clonality of Human T-cell leukemia virus type-1-infected cells in vivo. 2020. *Int J Hematol*. Sep;112(3):300-306. doi: 10.1007/s12185-020-02935-5.
- 5) Tezuka K, Fuchi N, Okuma K, Tsukiyama T, Hasegawa Y, Hasegawa H, Sasaki D, Miura S, Higashijima A, Sasaki E, Mizukami T, Kuramitsu M, Matsuoka S, Masuzaki H, Miura K, Hamaguchi I, Human T-cell Leukemia Virus Type 1 Targets Human Placental Trophoblasts in Seropositive Pregnant women, 2020, *J Clin Invest*, Nov 2;130(11):6171-6186. doi: 10.1172/JCI135525.
- 6) Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhashi K, Mizukami T, Hamaguchi I, Immunogenicity and toxicity of different adjuvants can be characterized by profiling lung biomarker genes after nasal immunization, *Frontiers in Immunology*, 2020, *Front Immunol*, Sep 11;11:2171. doi:10.3389/fimmu.2020.02171. eCollection 2020.
- 7) Okuma K, Kuramitsu M, Niwa T, Taniguchi T, Masaki Y, Watanabe K, Matsumoto C, Sobata R, Sagara Y, Nakamura H, Satake M, Miura K, Fuchi N, Masuzaki H, Okayama A, Umeki K, Yamano Y, Sato T, Iwanaga M, Uchimaru K, Nakashima M, Utsunomiya A, Kubota R, Ishitsuka K, Hasegawa H, Sasaki D, Koh K-R, Taki M, Nosaka K, Ogata M, Naruse I, Kaneko N, Okajima S, Tezuka K, Ikebe E, Matsuoka S, Itabashi K, Saito S, Watanabe T, Hamaguchi I, Establishment of a novel diagnostic test algorithm for human T-cell leukemia virus type 1 infection with line immunoassay replacement of western blotting: a collaborative study for performance evaluation of diagnostic assays in Japan, 2020, *Retrovirology*, Aug 24; 17(1):26. doi: 10.1186/s12977-020-00534-0
- 8) Sasaki E, Hamaguchi I, Mizukami T. Pharmacodynamic and safety considerations for influenza vaccine and adjuvant design. 2020, *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, Aug 24;1-11. doi: 10.1080/17425255.2020.1807936.
- 9) Kuramitsu M, Okuma K, Horiya M, Sekizuka T, Kaneko N, Saito E, Sokunaga J, Kuroda M, Hamaguchi I, First Case of Molecularly Identified and Genetically Characterized Human T-Cell Leukemia Virus Type 2 Infection in a Pregnant Woman in Non-Endemic Japan, 2020, *J Virol Methods*, Oct 21;114005. doi: 10.1016/j.jviromet.2020.114005.
- 10) Kurozumi-Karube H, Kamoi K, Ando N, Uchida M, Hamaguchi I, Ohno-Matsui K *In vitro* evaluation of the safety of adalimumab for the eye under HTLV-1 infection status: a preliminary study, 2020, *Front Microbiol*, Dec 23;11:522579. doi: 10.3389/fmicb.2020.522579.
- 11) Lotfi S, Nasser H, Noyori O, Hiyoshi M, Takeuchi H, Koyanagi Y, Suzu S. M-Sec facilitates intercellular transmission of HIV-1 through multiple mechanisms. 2020. *Retrovirology*. Jul 10;17(1):20. doi: 10.1186/s12977-020

-00528-y.

- 12) Yahiro T, Hara T, Matsumoto T, [Ikebe E](#), Fife-Koshinomi N, Xu Z, Hiratsuka T, Iha H, Inomata M. 2020. Corrigendum to "Long-Term Potable Effects of Alkaescent Mineral Water on Intestinal Microbiota Shift and Physical Conditioning". *Evid Based Complement Alternat Med*. Oct 5;2020:6706239. doi: 10.1155/2020/6706239. eCollection 2020.
- 13) [Maeyama JI](#), Kurata-Iesato Y, Isaka M, Komiya T, Sakurai S. Induction of antibody responses in mice immunized intranasally with Type I interferon as adjuvant and synergistic effect of chitosan. 2020. *Microbiol Immunol*. Sep;64(9):610-619. doi: 10.1111/1348-0421.12832.
- 14) Taniguchi K, Hayashi D, Yasuda N, Nakayama M, Yazawa K, Ogawa S, Miyatake Y, Suda S, Tomita H, Tokuda M, Itoh S, [Maeyama JI](#), Ohara N, Yamamoto S, Hida S, Onozaki K, Takii T. Comparative Study of the Susceptibility to Oxidative Stress between Two Types of Mycobacterium bovis BCG Tokyo 172. 2021. *mSphere*. Mar 10;6(2):e00111-21. doi: 10.1128/mSphere.00111-21.
- 15) [Maeyama JI](#), Iho S, Suzuki F, Hayashi D, Yamamoto T, Yamazaki T, Goto Y, Ozeki Y, Matsumoto S, Yamamoto S. Evaluation of a booster tuberculosis vaccine containing mycobacterial DNA-binding protein 1 and CpG oligodeoxynucleotide G9.1 using a Guinea pig model that elicits immunity to Bacillus Calmette-Guérin. 2021. *Tuberculosis (Edinb)*. *In press*
- 16) Nomoto H, Kutsuna, [Okuma K](#), [Tezuka K](#), [Ikebe E](#), Saito S, Terada M, Endo M, Suzuki T, Miyasato Y, Nakamoto T, Inada M, [Hamaguchi I](#), Ohmagari N, No SARS-CoV-2 RNA detection in the convalescent plasma of COVID-19 patients with different disease severity, 2021, *J Infect Chemother*, *In press*
- 17) Kamoi K, Horiguchi N, Kurozumi-Karube H, [Hamaguchi I](#), Yamano Y, Uchimarui K, Watanabe T, Horizontal transmission of HTLV-1 causing uveitis, 2021, *Lancet Infect Dis*, *In press*
- 18) Terada M, Kutsuna S, Togano T, Saito S, Kinoshita N, Shimanishi Y, Suzuki T, Miyazato Y, Inada M, Nakamoto T, Nomoto H, Ide S, Sato M, Maeda K, Matsunaga A, Satake M, Matsubayashi K, Tsuno H, Kojima M, [Kuramistu M](#), [Tezuka K](#), [Ikebe E](#), [Okuma K](#), [Hamaguchi I](#), Shiratori K, Sato M, Kawakami Y, Inaba K, Igarashi S, Yamauchi R, Matsumura M, Ishimaru K, Cho H, Kuge C, Ishihara M, Gouda M, Tanaka K, Ishizaka Y, Ohmagari N, 2021, How we secured a COVID-19 Convalescent Plasma Procurement Scheme in Japan, *Transfusion*, *In press*
- 19) Kusagawa S, Kawana-Tachikawa A, Matsubayashi K, Hoshi Y, Ishimaru K, [Hamaguchi I](#), Evaluation of Geenius HIV-1/2 Confirmatory Assay for the confirmatory and differential diagnosis of HIV-1/HIV-2 in Japan and reliability of the Geenius Reader in the diagnosis of HIV-2, *BMC Infectious Diseases*, *In press*
- 20) Matsuoka S, Kuwata T, Ishii H, Sekizuka T, Kuroda M, Sano M, Okazaki M, Yamamoto H, Shimizu M, Matsushita S, [Seki Y](#), Saito A, Sakawaki H, Hirsch VM, Miura T, Akari H, Matano T, A Potent anti-Simian Immunodeficiency Virus Neutralizing Antibody Induction Associated with a Germline Immunoglobulin Gene Polymorphism in Rhesus Macaques. *J Virol*. *In press*
- 21) Iwamoto Y, [Seki Y](#), Taya K, Tanaka M, Iriguchi S, Miyake Y, Nakayama EE, Miura T, Shioda T, Akari H, Takaori-Kondo A, Kaneko S, Generation of macrophages with altered viral sensitivity from genome-edited rhesus macaque iPSCs to model human disease. *Mol Ther Methods Clin Dev*. *In press*
- 22) [Kusunoki H](#), Tanaka T, [Ohshima C](#), Sakamoto T, Wakamatsu K, [Hamaguchi I](#), The N93D mutation of the HTLV-1 envelope glycoprotein found in symptomatic patients enhances neuropilin-1 b1 domain binding, 2021, *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, *In press*
- 23) Moriyama S, Adachi Y, Sato T, Tonouchi K, Sun L, Fukushi S, Yamada S, Kinoshita H, [Nojima K](#), Kanno T, Tobiume M, Ishijima K, Kuroda Y, Park ES, Onodera T, Matsumura T, Takano T, Terahara K, Isogawa M, Nishiyama A, Kawana-Tachikawa A, Shinkai M, Tachikawa N, Nakamura S, Okai T, [Okuma K](#), Matano T, Fujimoto T, Maeda K, Ohnishi M, Wakita T, Suzuki T, Takahashi Y. Temporal maturation of neutralizing antibodies in COVID-19 convalescent individuals improves potency and breadth to circulating SARS-CoV-2 variants. *Immunity*. *In press*

2. 和文発表

- 1) 瀧口功, 松岡佐保子. ヘモビジランス-周術期の輸液・輸血療法 All in One. 麻酔科プラクティス (文光堂), 2020. 140-143.
- 2) 瀧口功. HTLV-1 感染の現状. 神経感染症 2020. 5(1) 92-94.
- 3) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 瀧口功. 標準物質を用いた抗 HBs 抗体定量用体外診断薬の評価. 日本輸血細胞治療学会誌, 2020, 66 巻 4 号 p. 629-633.
- 4) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 瀧口功. 体外診断用医薬品の性能評価 AMED 研究事業を踏まえて (特別寄稿) The Medical & Test Journal, 2020, 第 1510 号(4)
- 5) 瀧口功. HTLV-1 感染症-ウイルス感染症の検査診断法. 臨床と微生物. 2021. 48(2). 167-170.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Nojima K. Updates in Lot Release System for Blood Products in Japan, 5th WPRO NCL Workshop /Global Bio Conference, Seoul, (WEB 開催), 2020 年 9 月

2. 国内学会

- 1) 大隈和, 倉光球, 手塚健太, 水上拓郎, 村田めぐみ, 明里宏文, 瀧口功. STLV-1 感染ニホンザルによる HTLV-1 標的ウイルス療法の開発に向けた検討. 日本実験動物学会, 大阪, 2020 年 5 月
- 2) 瀧口功. トレーサビリティの実用化に向けて. 第 68 回 日本輸血・細胞治療学会学術総会, (WEB 開催), 2020 年 5 月
- 3) 佐々木永太, 百瀬暖佳, 浅沼秀樹, 古畑啓子, 水上拓郎, 瀧口功. 遺伝子マーカーを用いたアジュバント含有経鼻ワクチンの細胞傷害性と有効性評価. 第 27 回日本免疫毒性学会学術年会, (WEB 開催), 2020 年 9 月
- 4) 水上拓郎, 百瀬暖佳, 佐々木永太, 古畑啓子, 楠英樹, 浅沼秀樹, 瀧口功. Reverse toxicology による新規アジュバントスクリーニング系の開発. 第 47 回日本毒性学会 web 開催, 2020 年 9 月
- 5) 池辺詠美, 松岡佐保子, 手塚健太, 倉光球, 大隈和, 中島誠, 小林誠一郎, 牧山純也, 山岸誠, 親泊政一, 内丸薫, 瀧口功. 小胞体ストレス応答を標的とした新規

抗 HTLV-1 薬の開発. 第 93 回日本生化学会大会シンポジウム, (WEB 開催), 2020 年 9 月

- 6) 瀧口功. 血液製剤を対象とした血レーサビリティの構築. 第 27 回日本輸血・細胞治療学会秋期シンポジウム, (WEB 開催), 2020 年 10 月
- 7) 大隈和, 瀧口功. HTLV-1 感染診断の考え方. 世界 HTLV デー記念講演会, (WEB 開催), 2020 年 11 月

III. 知的財産権

なし