

感染症安全対策体制整備事業（平成27年度）実績報告

事業代表者 浜口 功 国立感染症研究所血液・安全性研究部 部長

報告者 倉光 球 国立感染症研究所血液・安全性研究部 主任研究官

1. 事業の目的

輸血用血液製剤を含む血液製剤は、ヒトの血液を原料とするためウイルス等の病原体混入のリスクが存在する。社会問題となった輸血後肝炎をはじめ、既存の感染症については、国内献血血液のスクリーニング検査の精度向上等により、安全性は高まってきた。しかしながら、ジカウイルス、デングウイルス、チクングニアウイルス、ウエストナイルウイルス等の世界の一部の地域に限局的に発生する新たな感染症の病原体についても、今後日本国内に移入されることが想定され、献血血液への混入のリスクは益々高まっており、血液の安全性の観点からも、新たな対策が必要とされる。

これに対応し、平成25年4月より新たな病原体（特にデングウイルス、チクングニアウイルス、ウエストナイルウイルス）が移入した場合に備えて、実効性の高い対策として、厚生労働省血液対策課、日本赤十字社との連携のもと、本事業により感染症リスク管理体制の構築を行ってきた。平成27年度は、本事業において以下を実施し、新たなリスクの早期把握と評価を行った。

2. 実施内容

- (1) チクングニアウイルスに対する高感度核酸検査法の開発
- (2) 献血で検査落ちとなった血液検体におけるデングウイルス核酸検査の実施
- (3) 海外における血液安全に関する情報の収集及び交換

(1) チクングニアウイルスに対する高感度核酸検査法の開発

血液製剤の安全性を担保する上で病原体の混入を防止することは、極めて重要な課題である。ところが国内に輸入されるリスクのある病原体に対する高感度な検出法は、未整備の部分が多く、将来の国内感染発生時に万全に対応できる体制には至っていない。本事業では、これまでに優れた感度で検出できることが十分に確認できていないそれらの病原体について高感度の核酸検査法を整備し、将来的な血液への混入に備えることを目的とする。

平成26年度にデングウイルス1～4型の高感度核酸検査 Primer を同定した方法と同様に、平成27年度は大規模 Primer スクリーニングによってチクングニアウイルスに対する高感度核酸検査法を開発した。具体的には以下を行った（表1）。

1-1.Primer 設計：チクングニアウイルス登録配列に対して、Primer セットを206セット設計し、配列の相同性検索から高感度 Primer 候補148セットを得た。

1-2.Primer スクリーニング：148セットをチクングニアウイルス RNA（S27株）で

RT-qPCRを行い、結果のPCRサイクルの値をもとに良好な増幅を示した64セットを同定した。

1-3.Probeスクリーニング：上記のPrimerの増幅領域にProbeを設計し、そのうち登録配列と特に高い相同性を示した17Probeを合成した。3株のチクングニアウイルス国内輸入株を用いて、RT-qPCRでProbeの評価を行い、2セットについて極めて優れたProbeとして同定した。これらのPrimerとProbeのセットは文献上の高感度法と比較しても増幅効率が極めて優れていることを確認した。また以上の結果について、日本赤十字社と情報共有した。

(2) 献血で検査落ちとなった血液検体における Dengue ウイルス 核酸検査の実施

日本赤十字社の協力のもと、平成27年度内に東京都内で得られた献血血液のうち、検査落ちした血漿の20人プール100検体（計2,000人）の臨床検体について平成26年度に開発した核酸検査法を用いて Dengue ウイルス 1～4 型の小規模スクリーニング検査を行った（確認のため日本赤十字社でも同検体を同方法で測定）。

検査結果は、調べた全ての検体において、感染研と日本赤十字社とともに Dengue ウイルス 1～4 型の核酸は陰性と判定された。また陽性コントロール検体はすべて陽性、陰性コントロール検体はすべて陰性を示し、検出系として問題ないことも確認された。（表2）

(3) 海外における血液安全に関する情報の収集及び交換

WHOの血液安全に関するカンファレンスに参加するとともに、各国の血液行政に携わるネットワーク会議（Blood Regulators Network）に加盟し活動することにより、感染症リスクの早期察知および評価に基づく安全対策の検討を行った。また、国立感染症研究所の病原体関連部署と連携し、情報の収集や情報交換を行った。

3. 考察

Dengue ウイルスは平成26年8月に約70年ぶりに国内感染が発生し、当該ウイルスに対する血液製剤の安全性確保は喫緊の課題となった。平成26年度の Dengue ウイルス 高感度核酸検査法に引き続き、本事業でさらにチクングニアウイルスに対しても複数の高感度 Primer セットを同定できた。臨床分離株の検討により、これまでの検査法に比べ、効率的な検査法が準備できたと考えられる。

また、日本赤十字社の臨床検体を用いて約2,000人について実際に Dengue ウイルス 核酸検査を行い、結果を判定できたことは意義深いと考えられる。

本事業で確立された Dengue ウイルス およびチクングニアウイルス 高感度核酸検出法は、今後のウイルスの血液への混入をモニターする有力なツールになると期待される。また引き続きジカウイルス等への対策も喫緊の課題と考えられる。

4. 平成28年度の実施計画

- (1) 献血で検査落ちとなった血液検体及びコールバック検体における高感度デングウイルスおよびチクングニアウイルスの核酸検査の実施
- (2) 国内移入が危惧されるジカウイルスに対する高感度核酸検査法の開発
- (3) 海外における血液安全に関する情報の収集及び交換

表1. チクングニアウイルスに対する高感度核酸検査法の構築
高感度 Primer の大規模スクリーニングの結果

1-1		1-2	1-3	
Primer設計	相同性検索	Primer スクリーニング	Probe設計	Probe スクリーニング
206	148	64	17	2

表2 献血血液で検査落ちとなった20人プール検体のデングウイルス核酸検査の結果

Pool ID	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	Pool ID	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	Pool ID	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4
001	-	-	-	-	041	-	-	-	-	081	-	-	-	-
002	-	-	-	-	042	-	-	-	-	082	-	-	-	-
003	-	-	-	-	043	-	-	-	-	083	-	-	-	-
004	-	-	-	-	044	-	-	-	-	084	-	-	-	-
005	-	-	-	-	045	-	-	-	-	085	-	-	-	-
006	-	-	-	-	046	-	-	-	-	086	-	-	-	-
007	-	-	-	-	047	-	-	-	-	087	-	-	-	-
008	-	-	-	-	048	-	-	-	-	088	-	-	-	-
009	-	-	-	-	049	-	-	-	-	089	-	-	-	-
010	-	-	-	-	050	-	-	-	-	090	-	-	-	-
011	-	-	-	-	051	-	-	-	-	091	-	-	-	-
012	-	-	-	-	052	-	-	-	-	092	-	-	-	-
013	-	-	-	-	053	-	-	-	-	093	-	-	-	-
014	-	-	-	-	054	-	-	-	-	094	-	-	-	-
015	-	-	-	-	055	-	-	-	-	095	-	-	-	-
016	-	-	-	-	056	-	-	-	-	096	-	-	-	-
017	-	-	-	-	057	-	-	-	-	097	-	-	-	-
018	-	-	-	-	058	-	-	-	-	098	-	-	-	-
019	-	-	-	-	059	-	-	-	-	099	-	-	-	-
020	-	-	-	-	060	-	-	-	-	100	-	-	-	-
Positive	+	+	+	+	Positive	+	+	+	+	Positive	+	+	+	+
Negative	-	-	-	-	Negative	-	-	-	-	Negative	-	-	-	-
021	-	-	-	-	061	-	-	-	-					
022	-	-	-	-	062	-	-	-	-					
023	-	-	-	-	063	-	-	-	-					
024	-	-	-	-	064	-	-	-	-					
025	-	-	-	-	065	-	-	-	-					
026	-	-	-	-	066	-	-	-	-					
027	-	-	-	-	067	-	-	-	-					
028	-	-	-	-	068	-	-	-	-					
029	-	-	-	-	069	-	-	-	-					
030	-	-	-	-	070	-	-	-	-					
031	-	-	-	-	071	-	-	-	-					
032	-	-	-	-	072	-	-	-	-					
033	-	-	-	-	073	-	-	-	-					
034	-	-	-	-	074	-	-	-	-					
035	-	-	-	-	075	-	-	-	-					
036	-	-	-	-	076	-	-	-	-					
037	-	-	-	-	077	-	-	-	-					
038	-	-	-	-	078	-	-	-	-					
039	-	-	-	-	079	-	-	-	-					
040	-	-	-	-	080	-	-	-	-					
Positive	+	+	+	+	Positive	+	+	+	+					
Negative	-	-	-	-	Negative	-	-	-	-					

Positive: 1x10⁴コピー/ml に調整したデングウイルス陽性検体、Negative: 陰性血漿