

図7. レーダーに映った渡り鳥。
緑色の線が渡り鳥を示す。

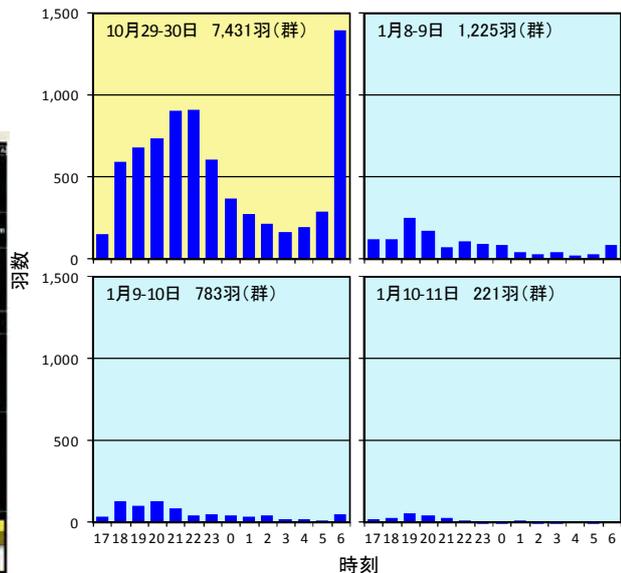


図8. 渡り鳥の移動頻度の時系列変化
秋期に比し厳冬期の移動は少ない。

(2) サブテーマ2：WNVの野鳥における生態学的研究

生態学的研究に欠かすことのできない検出法の確立を試み、WNVと日本脳炎ウイルス(JEV)を高感度に特異的に検出するPCRを開発した。また、WNVの血清診断法として、マイクロプレートを用いた小容量中和試験を構築した。これらの方法を用いて極東ロシアにおいて採集した野鳥98検体につきWNVの感染実態を調査した。リアルタイムPCRによってWNV特異遺伝子の検出を試みたが、全例陰性であった。一方、小容量中和試験によって野鳥血清91例中15例でWNVに対する中和抗体が検出され、これらの地域に生息する野鳥間においてWNVが浸淫していることが示唆された。野鳥から採集したマダニについてフラビウイルス共通遺伝子検出系を開発し、WNV、JEVを含めて感染の有無を検査したが、すべて陰性であった。渡り鳥飛来地として、青森県十三湖周辺、新潟県佐潟水鳥・湿地センター、東京港野鳥公園の3調査地を選び、疾病媒介蚊の発生状況を調査した。ドライアイス1kgを誘引源とするトラップ採集を主とした成虫採集を実施し、3地域全体で10属17種5,338個体の蚊成虫が採集された。これらの蚊からのWNVの検出を行った結果、すべて陰性であった。

(3) サブテーマ3：野鳥におけるHPAIVの生態学的研究

表1に示すように国内検体では14,445検体中、275株の鳥インフルエンザウイルスが分離され(陽性率1.9%)、海外検体では1,964検体中、70検体の鳥インフルエンザウイルスが分離された(陽性率3.56%)。分離された345株のうち、19株がH5亜型、12株がH7亜型であったが、遺伝子解析を実施した結果、HA開裂部位に塩基性アミノ酸の挿入は認められず、またトリプシン非存在下では細胞で増殖できない、すべて自然界に普通に存在する非病原性の鳥インフルエンザウイルスであり、高病原性鳥インフルエンザウイルスは分離されなかった。夏鳥に関してはオオヨシキリとツバメを中心とする318個体の咽頭およびクロアカスワブあるいは糞便からのウイルス分離並びに抗H5HI抗体検査を実施したが、すべて陰性であった。3種の陸生野鳥(シロハラ、ツバメ、オオヨシキリ)を用いて高病

原性鳥インフルエンザウイルスの感染実験を行い、ウイルスの増殖能および病原性を調べたところ、3種の陸生野鳥はいずれも高病原性鳥インフルエンザウイルスに対して高い感受性を有していることが明らかとなった。また、ツバメやオオヨシキリと比較して、シロハラは感染後の死亡率が低く、本ウイルスを長距離運搬する能力を有していると考えられた。

表1 鳥インフルエンザウイルスのサーベイランス

	サンプル数			合計	ウイルス 分離数	分離頻度 (%)
	H17年度	H18年度	H19年度			
国内						
感染研(水禽類)	-	781	677	1458	21	1.44
動衛研(水禽類)	4256	4156	1587	9999	177	1.77
北大(水禽類)	741	656	749	2146	68	3.17
鳥取大(水禽類)	492	152	198	842	9	1.07
海外(モンゴル)						
北大(水禽類)	476	545	943	1964	70	3.56

(4) サブテーマ4：ウイルスゲノムデータベースの構築

ゲノム科学、生物情報科学、計算科学を応用して、ウイルスの変異を研究するための研究環境を整備した。公共データベースからウイルスゲノム情報を収集し、自動更新するシステムを作り、収集情報を使って計算科学解析を実行する環境を整備した。構築したシステムは、トリ IFV の感染受容体特異性の変化を予測するのに有用であることを示す結果を得た。トリ IFV の H5N1 株の HA はトリ細胞の感染受容体にのみ親和性を持つが Q192R と S223N の変異が加わると、トリとヒトの両細胞の感染受容体に親和性を持つことが報告された (Yamada et al., 2006. Nature, 444:378-82)。そこで、野生型と変異体の HA 構造モデルとトリ及びヒト型感染受容体分子の構造モデルを作製し、HA と感染受容体の結合エネルギーを計算した。HA と感染受容体の親和性を示す計算値は、実験で示された親和性と極めてよく一致した。

次にトリ IFV H1N1 株をモデルに、HA がヒト型感染受容体への結合能を獲得する (Q192R と S223N 変異) 際に必要となる他の変異を探った。受容体結合部位の近傍で、トリ型 HA ではアミノ酸のバリエーションがあり、ヒト型 HA ではアミノ酸が高度に保存されている部位を抽出すると、154 番目のアミノ酸はヒト型では必ず L なのに対し、トリ型では I または L であることがわかった。Q192R または S223N の変異を 154 が I の HA に導入すると、トリ型感染受容体との親和性が著しく低下したが、154 が L の HA に導入するとトリ型感染受容体との親和性を維持したまま、ヒト型感染受容体との親和性が大きく上昇した。この成績は、IFV H1N1 株がヒト細胞への感染性を獲得する過程で、まず 154L の変異が不可欠であることを示唆している。

科学技術振興調整費 「科学技術連携施策群の効果的・効率的な推進」
平成 18～20 年度実施「BSL-4 施設を必要とする新興感染症対策」成果の概要

研究代表者 国立感染症研究所ウイルス I 部部長 倉根 一郎

1) 研究目的

1945 年以降、エボラ出血熱等の重篤な感染症が新たに登場し、我が国でもラッサ熱輸入患者（1987 年）が発生するなどをもまえ、対策が求められている。本研究では、エボラウイルス等のレベル 4 病原体による新興感染症への対策を進めることを目的として、診断技術と研究基盤の向上のために先進の諸外国研究機関との共同研究を推進する。また、BSL-4 施設とそれを支える研究施設の整備の方針や、BSL-4 施設に関する国民の理解を深める方策を明らかにする。

この課題は 4 つのサブテーマに分かれて実施され、サブテーマごとに以下の目標を持つ。サブテーマ 1：レベル 4 病原体の基盤研究と診断技術を向上させ、人材育成を図る。サブテーマ 2：新興感染症対策において、レベル 4 病原体を研究する施設がないことによる弊害を分析し、BSL-4 施設建設とその活用による効果を明確化する。サブテーマ 3：諸外国の最新施設の現状を把握し、わが国に最適の BSL-4 施設建設の方策を提示する。サブテーマ 4：BSL-4 施設に関する国民の理解を深める方策を提示する。

2) 研究成果の概要

(1) サブテーマ 1

世界標準レベルの診断・研究技術の習得のため諸外国機関と共同研究を実施すること、また、将来わが国において BSL-4 研究を担っていく人材を育成することを目的とした。13 研究グループがカナダ国立微生物病研究所、フランスリヨン国立医学研究所、オーストラリア、南アフリカ医学研究所、米国テキサス大学ガルベストーン校等の BSL4 施設等に研究者を派遣して共同研究を行い、以下に述べるように多くの BSL-4 病原体ウイルスの研究で成果が得られた。

(1) -a. エボラウイルスに関する研究

① エボラウイルス感染の診断法確立に関する研究

エボラウイルスを含むフィロウイルスの遺伝子を検出するためのプライマーをデザインし、カナダ国立微生物病研究所 BSL-4 施設において、フィロウイルス RNA を用いた RT-PCR の検出感度および特異性の検査を実施した。また、フィロウイルスの表面糖蛋白質組換え体を作成し、抗体診断用 ELISA を確立したほか、エボラウイルスの表面糖蛋白質に対するモノクローナル抗体の性状を解析した。

② エボラウイルス病原性の研究

カナダ国立微生物病研究所において、エボラウイルスの病原性に関わる宿主蛋白質、特にウイルス特異抗体および C 型レクチンの役割を解析した。抗体依存性感染増強現象に関わるエピトープを同定するとともに、感染増強抗体を誘導しないワクチンの試作を行い免疫原性の解析を行った。

③ エボラウイルス感染の治療、予防に関する研究

エボラウイルス様ウイルス（シュードタイプウイルス）を用いて、エボラウイルスの感染に関与する宿主因子を検索した。

④ エボラウイルス感染に関する研究

フィリピンにおいてコウモリの生態調査を行うための許可を得、コウモリの捕獲を行い捕獲コウモリのウイルス保有状況等を解析した。

(1) -b. マールブルグウイルスに関する研究

一反応系で MARV、EBOV、LASV の迅速簡便検出が可能な RT-LAMP 法を開発した。英国健康保護局 (HPA) ポートンダウンの BSL-4 研究施設において共同研究を実施し、ウイルス検出法の有用性を確認した。

(1) -c. ハンタウイルスに関する研究

ハンタウイルス診断抗原の開発、特に豚水泡性口炎ウイルス (VSV) の G 蛋白質をハンタウイルスのエンベロープ糖蛋白質に置換したシュードタイプウイルスを作出し、安全な中和試験法を開発した。ハンタウイルス鑑別診断抗原をプーマラタイプ・ツウラタイプについて開発した。

(1) -d. ニパおよびヘンドラウイルスに関する研究

① ニパウイルス、ヘンドラウイルスの診断法確立に関する研究

ニパウイルス F、G 蛋白質を発現した VSV シュードウイルスを作出し、中和抗体法による確定診断系を確立した。オーストラリアの BSL-4 施設と共同研究を実施し、診断法の有効性を確認した。

② ニパウイルスの病原性に関する研究

ニパウイルスのリバースジェネティクス系を確立し、病原性解析のためのウイルスを作出した。

③ ニパウイルスの疫学に関する研究

ニパウイルスの診断系を確立し、ベトナムで捕獲したルーセットオオコウモリにおいてニパウイルス N 蛋白質に対する抗体陽性個体が存在することを確認した。南アフリカの BSL-4 施設と共同研究でコウモリの疫学調査を行った。

④ 動物のニパウイルス、ヘンドラウイルス感染の診断法確立に関する研究

組換えニパウイルス N 蛋白質に対するモノクローナル抗体を作製し、免疫組織染色法ならびに間接蛍光抗体法でニパウイルス抗原と反応することを確認した。オーストラリア家畜衛生研究所において、ニパウイルス感染豚血清 20 検体を用い阻害 ELISA を実施した。

(1) -e. ラッサウイルス、南米出血熱ウイルスに関する研究に関する研究

ラッサウイルス、南米出血熱ウイルスに対する抗体検出法を改良するため、抗原調製の最適化を図った。

(1) -f. クリミアコンゴウイルス、リフトバレーウイルスに関する研究

中国の患者から得られた血清からクリミアコンゴウイルスの部分 S-遺伝子および部分 M-遺伝子を増幅し、クリミア・コンゴ出血熱の流行を、分子疫学的に詳細に検討した。

(1) -g. ダニ媒介性脳炎ウイルスに関する研究

ウイルスの構造蛋白をコードする領域を欠損させ、欠損領域に GFP 遺伝子を組み込むことによって GFP を発現するレプリコン (中空粒子) を作製し、これを用いた診断系 (抗体検出法と中和抗体測定法) を開発した。

(2) サブテーマ 2

(2) -a. BSL-4 施設の必要性に関する研究

BSL-4 施設に関する世界各国の方針について情報を収集した。

①アメリカ

患者診断のための検査、基盤研究、バイオテロ対策に対応した施設が7カ所あり、さらに同規模の施設を2カ所建設中である。

②ドイツ

現在2つの施設があり、他に2施設を建設予定である。4施設は、診断検査、基盤研究、バイオテロ対策、動物（家畜）感染症対策をそれぞれ主たる機能とするが、患者診断のための検査に関しては複数の施設が互いに補完することとなっている。

③イタリア

BSL-4 実験室とともに隔離用病室を有する新施設がある。他に1つ診断検査のための施設があり、補完体制がとられている。

④イギリス

3つの施設があり、1つは診断検査を主とするもの、1つは複数の機能をもつもの、さらに、バイオテロ対策を主とするものである。診断検査に関しては補完体制がとられている。

⑤オーストラリア

診断検査、基盤研究、バイオテロ対策、動物（家畜）感染症対策に対応した施設と診断検査のための施設があり、診断検査については補完できる体制となっている。

⑥フランス、スウェーデン、カナダ

それぞれ1つの施設があり、診断検査、基盤研究など複数の機能をもつ。さらに、近隣諸国との地域連携を行なっている。

このほか、シンポジウムを開催するなどして、各国の状況についての情報収集を行った。

(2) -b. 世界各国における BSL-4 施設の現状に関する研究

世界各国の BSL-4 施設につき現地調査を実施し、立地条件を調査するとともに、各施設の設置目的、運用状況、国民や周辺住民への対応等に関する情報収集を行った。具体的には、アメリカ（疾病予防管理センター（CDC）、テキサス大学ガルベトン校、USAMRIID）、カナダ（国立微生物学研究所）、フランス（国立医学研究所（INSERM））、イギリス（健康保護局）、ドイツ（コッホ研究所、ノッホ研究所）、イタリア（国立微生物病研究所）、オーストラリア（動物衛生研究所）、インド（国立ウイルス学研究所）等について調査を実施し、以下のような結果を得た。

①設置目的

患者の診断検査を主目的とする施設と、基盤研究、バイオテロ対策、動物（家畜）感染症対策など複数の機能を有する施設がある。

②運用状況

米国 CDC のように1つの施設内で2つ以上のユニットが独立に存在する場合や、イギリスのように国内に複数の施設が存在する場合には、メンテナンス時期をずらすなどして、補完できる体制が取られている。フランスなど、国内の BSL-4 施設が1つだけの場合には、定期的なメンテナンスのために1年に1ヶ月程度は休止する期間が生じるため、研究を推進する上でも不都合が生じることがある。

③国民や周辺住民への対応

立地については、住宅地に隣接していることが多いが、離れている場合もある。地元自治体や周辺住民との対話や説明会は多くの施設で実施されている。特に、住宅地に隣接している施設の場合は、建設前から地元自治体や周辺住民との対話や施設に関する情報の提供などを実施し、建設後も継続している例が多い。たとえば、カナダの研究所においては、住民の代表からなる委員会が、研究所内の情報の住民

への周知について毎月検討しているほか、委員会の運営など住民との対話を専門する担当者を置いて、感染症研究や BSL-4 施設に対する理解を深める活動を継続している。

以上のほか、実際にレベル 4 病原体による感染症の患者の輸入例が発生した国の実際の対応例として、ドイツ（ラッサ熱患者、2006 年）及びオランダ（マールブルグ出血熱患者、2008 年）の状況を調査した。その中では、専門病院に患者を搬送する際の困難さやその対策、事前準備の重要性、国民やメディアに対する情報提供の重要性などが明らかになった。

(2)-c. 調査研究に基づく日本における BSL-4 施設の整備についての纏め

① わが国の現状と喫緊の課題

世界各地における感染症発生の現状を考慮すれば、わが国が BSL-4 施設を用いた病原体検査能力を持たずに、レベル 4 病原体や未知の病原体による感染症に対する迅速かつ確実な対策をとることは不可能であり、そのような対策をとれる体制の確保を喫緊の課題とすべきである。

② 新たな BSL-4 施設の機能

我が国においても、重度感染症制圧のための BSL-4 施設を用いた基盤研究（病原体の病原解析、治療法開発、ワクチン開発等）が推進されるべきである。基盤研究の推進には、欧米の BSL-4 研究施設に例を見るように、動物を用いた実験も十分可能である施設を有するスーツ型の施設が考慮されるべきである。また、定期点検を考慮すれば一施設に最低 2 系統を有することが必要である。

③ 新たな BSL-4 施設の建設

基盤的研究の遂行を考慮すれば、地域は大都市部に限定される必要はないが、他の研究施設、機関との連携が可能な地域であるべきである。即ち、大学等の研究施設が周辺にあるなど科学基盤が十分整備されている地域を考慮すべきである。さらに、重度感染症や未知の感染症診断を補完機能として有することを考慮し、交通アクセスも十分確保できる地域である必要がある。

(3) サブテーマ 3 :

BSL-4 施設の設備及びマネジメントについての現地調査を実施し、基本的な空調、排水、施設維持についての情報整理を行った。

(3)-a. BSL-4 施設の設備および維持管理に関する研究

米国（アトランタの CDC、設計コンサルタント会社の CUH2A）、カナダ（ウィニペグ）、英国（コリンデールとポートンダウン）、フランス（リヨン）などの BSL-4 施設について、建築構造及び設備システム関連の技術者が現地調査を行い、BSL-4 施設についての設計・設備、維持管理、セキュリティ等の現状把握を行ったほか、BSL-4 施設の設計者及び各施設の管理運営者から設計・設備、バイオセーフティ・バイオセキュリティについての情報を得て、討議を行った。以上の海外調査結果を基に、設計計画案の作成上の必要な各種項目の整理を行った。

その結果として、機密性、排水処理、空調など、施設の安全性を確保するために求められる機能を明らかにしたほか、スーツ型及びグローブボックス型いずれの設備であっても、メンテナンスや設備の交換に配慮した施設設計が重要であることを確認した。

セキュリティについては、敷地の入り口での保安検査、敷地内での訪問者の単独行動の禁止、施設の入り口などでのセキュリティーカードと暗証番号による確認などが実施されている。新しい施設では、指紋や虹彩による個人認証も利用されている。

(3) -b. 動物感染症研究のための BSL-4 施設に関する研究

オーストラリア（オーストラリア家畜衛生研究所）、ポーランド（国立獣医学研究所）、英国（動物衛生研究所）等、世界各国の動物病原体取扱施設（新設あるいは新設計画を含む）調査を行って施設デザインと安全管理区分及びセキュリティシステムに関する情報収集を行った。その結果、機密性、排水処理、空調など、施設の安全性を確保するために求められる機能を明らかにした。また、BSL-2、BSL-3、BSL-4 施設を組合わせた施設として、様々な病原体を取り扱うことができる体制になっている。

(4) サブテーマ 4 :

感染症専門家・マスコミ関係者・リスクコミュニケーション専門家等からなる研究会（2ヶ月に一度程度の頻度で開催された定期的な会合）で、BSL-4 施設の重要性、必要性和安全性に関し国民全般や地域住民の理解を深めるために採るべき方策を検討した。具体的には、以下の活動を実施した。

①BSL-4 施設に関する国民の意識と理解の現状についての調査

インターネットによる調査を行い、その結果、地域によって施設に対する認識の差があることを明らかにした。

②リレーシンポジウムの開催

感染症研究及び BSL-4 施設に関する国民の理解を深めるためのリレーシンポジウムを開催した。

③海外 5 カ国の BSL-4 施設のリスクコミュニケーション担当者とのディスカッション
アメリカ、オーストラリア、ドイツ、カナダ、イギリスの BSL-4 施設を有する機関のリスクコミュニケーション担当者を招聘し研究会を開催し、リスクコミュニケーションの重要性やその進め方を明らかにした。

④新施設建設に伴うリスクコミュニケーションの検討

BSL-4 施設を新設する際に実施すべきリスクコミュニケーションの方策等を明らかにした。

(5) BSL-4 施設の必要性についての提言

第 11 回ライフサイエンス PT において、「BSL-4 施設建設による新興・再興感染症研究体制強化の必要性」についての提言を提出した。