

## 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、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。当部は4室で構成されており、第1室（血液製剤室）は血液製剤に関わる業務、第2室（輸血病態室）は輸血関連病態に関わる業務、第3室（物理化学室）は物理化学に関わる業務、第4室（ワクチン・血液室）は安全性（一般毒性試験など）に関わる業務を行っている。

検定業務においては、新たなワクチンの需要が高まり、国家検定に関する業務も増大している。このような状況の中、平成27年度は乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン、組換え沈降9価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチンの承認前検査を行うとともに、品質の均一性を確認するための試験の実施体制を整えた。また、血液製剤に対する免疫グロブリンG重合体否定試験、抗補体性否定試験法の標準化を完了した。これらの試験に用いる参照品の整備を行い、試験精度の向上を積極的に図っている。一方で試験体制の効率化を図るべく、平成27年度は乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの国家検定からたんぱく質含量試験（ローリー法）の削除、人凝固第Ⅷ因子及び人ハプトグロビンの国家検定からのたんぱく質含量試験（凝固性たんぱく質含量試験）の削除の検討を終了した。これまでの試験結果と現在の品質管理状況を多角的に鑑み、廃止は可能との判断に至った。これまでに、血液製剤のロットリリースのあり方については検討してきたが、ワクチンにおいて既に導入が図られている SLP 審査を、血液製剤においても導入を検討する時期に来ていると思われる。ロットリリースにおいて製剤の製造工程のレビューを行う体制を整えたい。

体外診断用医薬品においては、B 型肝炎ウイルス表面抗原キット及び AB0 式血液型キット、Rh 式血液型キット（ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体）の承認前検査を担当した。合わせて体外診断用医薬品の承認前検査の効率的な進め方についての検討を行った。

国際協力業務については、多くの部員が JICA 等の研

修事業において講師をつとめた。また、生物学的製剤の標準化に関する WHO の会議に出席するとともに、WHO 国際標準品制定に関し、血清/血漿中の抗 A 抗 B 抗体価の評価を目的とした WHO 参照品、C 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品、B 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品のための WHO 国際共同研究に参加し共同測定を行った。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。血液製剤や輸血血液の安全性に関する国際的な課題については、WHO の Blood Regulators Network 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。

研究業務においては、「感染症」「ワクチン」「血液」の大きな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、血液製剤安全性確保のための Dengue ウイルス、チクグニアウイルス高感度核酸検査法の開発、日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究を行っている。その他にも、HTLV-1 感染症の疫学、診断、感染予防、ATL の発症予防に関する研究を重点的に推進している。また「ワクチン」においては、医薬基盤研究所と協力してアジュバントの安全性評価のためのデータベース構築の研究をはじめ、網羅的遺伝子発現解析による革新的アジュバント安全評価法の開発等、ワクチンの品質向上を目指した試験法の開発・改良等を行っている。こうした当部の研究業務は、日本研究開発機構、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のもと行われている。

### 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) HTLV-1 検査法の標準化

末梢血中の HTLV-1 プロウイルス量は、HTLV-1 キャリアからの ATL 発症の予測因子として注目されている。しかし、施設毎の HTLV-1 核酸検査の測定結果には乖離があることが知られているため、ATL 由来 HTLV-1 感染細胞株の TL-0m1 細胞を HTLV-1 核酸検査の標準物質として設定した。現在、この細胞を用いた HTLV-1 核酸検査標準品の候補品の作製に取り組んでいる。また HTLV-1 感染のより正確な診断法の整備のため、抗体検査 1 次検査陽性者に対して、Western Blot 法と核酸検査法を同時に実施し、核酸検査の有効性について施設共同研究にて確認した。本核酸検査は、妊婦の Western Blot 法判定保留例に対する検査として保険取載されることとなった。さらに、推奨検査手順フローに核酸検査法を組込んだ「妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針(案)」も作成している。[倉光球、大隈和、濱口功]

## 2) 血液製剤安全性確保のための Dengue ウイルス、チクングニアウイルス高感度核酸検査法の開発

本邦でも、近年、海外からの様々な病原体の輸入例が報告されるようになり、万一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。検査対象としてプール血漿を想定し、約  $10^4$  倍に希釈された血漿中の病原体でも検出できる高感度核酸検査法を準備する。本年度は、約 70 年ぶりに国内感染が確認された Dengue ウイルスとチクングニアウイルスの高感度核酸検査系の構築を目指した。Taqman RT-qPCR 法用のオリゴ Primer と Probe をスクリーニングし、有効なオリゴセットを同定した。Dengue ウイルスについては、1 チューブで Dengue 4 血清型全てを同時に検出できる multiplex RT-qPCR 法を構築した。これまでの方法に比べても、感度・特性は同等以上であることを確認した。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、高崎智彦(ウイルス 1 部)、倉根一郎(所長)、濱口功]

## 3) 輸血血液における HTLV-2 の検出法開発に関する研究

HTLV-1 とは異なり、近縁株の HTLV-2 の国内感染の報告はこれまでほとんどなく、HTLV-2 の感染対策は充実していない。しかしながら海外では HTLV-1 だけでなく HTLV-2 の感染が問題となっており、献血検査においても HTLV-2 検査を実施する国も少なくない。HTLV-2 が将来的に日本の国内に侵入し蔓延することが懸念さ

れる。そこで本研究では、HTLV-2 を検出できる qPCR primer & probe セットを新規に大規模スクリーニングし、高感度 HTLV-2 核酸検査法を確立することを進めている。

[大隈和、倉光球、相良康子(日本赤十字社)、濱口功、倉根一郎(所長)]

## 4) 国内で使用されている HBV マーカー検査キットに関する性能調査の検討

HBV の再活性化が大きな問題となり、免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策ガイドラインが作成され、ますます HBV マーカーの血清学的検査の重要性が認識されるようになってきた。これまで、日本赤十字社の協力のもと、国内で製造承認後販売されている HBV マーカー検査キットの性能調査を実施し、キット間での比較検討を行ってきた。現在、次期性能調査実施に向けて、検討をより詳細に行うための、HBV genotype 既知の献血由来検体を用いた新たな評価検体を整備している。

[大隈和、内田茂治(日本赤十字社)、百瀬暖佳、濱口功、溝上雅史(国立国際医療研究センター)]

## 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

平成 25~26 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。本年度は新試験法において改訂後の感度とガイドラインに従って B 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス及びヒト免疫不全ウイルスの NAT の感度と同定が適切に精度管理されているかの実情を把握する目的で 3 ウイルスのブラインドパネルを用いて第 7 回 NAT コントロールサーベイを実施した。対象とした全施設(分画製剤製造所等 5、輸血用血液スリーニング施設 8)において上述の 3 ウイルスを正しく検出・同定出来た。

[水澤左衛子、松岡佐保子、濱口功]

## 6) C型肝炎ウイルス検出を目的とした体外診断用医薬品の性能調査

国内採取検体を用いて整備した HCV 感染症検体パネル候補品の適性評価、および C型肝炎ウイルスの体外診断用医薬品の性能調査を行った。HCV 抗体は国内で市販されているキットの一部を対象としたが、正確性に問題はなかった。HCV-RNA、HCV コア抗原について、各キット間の相関は高く、遺伝子型による差異も認められなかった。

コア抗原が低値を示した一部検体についてはアミノ酸点変異の可能性が報告されており、該当箇所の配列解析を行っている。

[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、松岡佐保子、大隈和、濱口功]

## 2. 国際・国内標準品整備に関する研究

### 1) 血清/血漿中の抗A抗B抗体価の評価を目的としたWHO参照品整備のための国際共同研究への参加

溶血の原因となる高力価の抗A抗Bを含む製剤のスクリーニングやABO不適合腎移植の可否を判定するため、試験品と並行して力価を測定する参照品が必要とされ、NIBSCにおいて抗A、抗B抗体価のWHO参照品(血清、血漿)候補品が製造された。NIBSC担当者より力価評価のための国際共同研究へ参加依頼があり、参加して結果を報告した。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、濱口功]

### 2) C型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のためのWHO国際共同研究への参加

イギリスのNIBSCが組織する国際共同研究に我々も含めて11か国17研究室が参加した。参加者の大半は日常使用している市販のreal-time PCR法キットを用いた定量法あるいは定性法で測定した。第2次国際標準品(IS)に対して第5次IS候補品の力価を決定した。HCV抗体陰性の第4次ISの力価が常温輸送で低下したことから抗体陰性の第5次IS候補品の安定性を慎重に検討した結果、常温輸送可能であるが安定性の監視は継続することになった。共同研究の結果は2015年のECBSに報告され、力価1,000,000 IU/mLの第5次HCV-NAT国際標準品(code 14/150)が制定された。

[水澤左衛子、松岡佐保子、濱口功]

### 3) B型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のためのWHO国際共同研究への参加

イギリスのNIBSCが組織する国際共同研究に我々も含めて7か国13研究室が参加した。参加者の大半は日常使用している市販のreal-time PCR法キットを用いた定量法あるいは定性法で測定した。第3次ISと第4次IS候補品(10/266)の測定力価はそれぞれ5.94と5.97 log<sub>10</sub>IU/mLで、2011年の共同研究における第2次ISに対する相対力価と僅差であった。候補品の力価は製造後5年間安定性であった。よって、国際標準品の更新の度に生じる誤差を最小にするため、候補品(10/266)の力価は前回の共同研究における第2次IS

に対する相対力価5.98 log<sub>10</sub>IU/mL即ち955,500 IU/mLを採用することになった。共同研究の結果は2016年のECBSに報告され第4次国内標準品が制定される。

[水澤左衛子、松岡佐保子、濱口功]

## 4) ウイルスに関する体外診断用医薬品の国際標準品等の動向

2015年度のWHO ECBSにおいて、臓器移植で問題となるJCV-DNA、およびBKV-DNA国際標準品、第5次HCV-RNA国際標準品が制定された。近年アフリカを中心に大流行したエボラウイルスの抗体、核酸の国際標準品の制定も進められている。また、ウイルス抗体の体外診断薬については判定や測定値の乖離が各国で大きな問題となっており、これを改善するための議論が始まった。

[百瀬暖佳、水澤左衛子、松岡佐保子、濱口功]

## 5) HBV-DNA 国内標準品の力価の再評価

血液製剤のHBV核酸検査の国内標準品が製造されて10年以上経つ。現在の定量法を用いて国内標準品の力価を再評価した。共同研究に国内7施設が参加し、測定結果9組が報告され、国立感染症研究所が解析した。コバスTaqMan HBV「オート」v2.0、アキュジーンm-HBV、In-house TaqMan PCR法が測定に使用された。第3次WHO国際標準品に対する国内標準品の相対力価は1,057,000 IU/mL(95%信頼区間804,100~1,391,000 IU/mL)と評価され、エンドポイント法で決定した現行の力価の約2.5倍であったが、定量法により信頼性の高い力価が得られた。研究結果は薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会に報告され、正式な力価が策定される。

[水澤左衛子、落合雅樹(品質保証・管理部)、山口照英(日本薬科大学)、松岡佐保子、濱口功]

## 6) HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価

血液製剤のHIV核酸検査の国内標準品が製造されて10年以上経つ。現在の定量法を用いて国内標準品の力価を再評価した。共同研究に国内6施設が参加し、測定結果6組が報告され、国立感染症研究所が解析した。コバスTaqMan HIV-1「オート」v2.0、アキュジーンm-HIV-1、In-house TaqMan RT-PCR法が測定に使用された。第3次WHO国際標準品に対する国内標準品の相対力価は75,200 IU/mL(95%信頼区間61,400~92,100 IU/mL)と評価され、エンドポイント法で決定した現行の力価の約0.42倍であるが、定量法によって信頼性の高い力価が得られた。研究結果は薬事・食品衛

生審議会血液事業部会安全技術調査会に報告され、正式な力価が策定される。

[水澤左衛子、落合雅樹(品質保証管理部)、草川茂(エイズ研究センター)、古田美玲(エイズ研究センター)、内田恵理子(国立医薬品食品衛生研究所)、川村利江子(埼玉医科大学病院)、岡田義昭(埼玉医科大学病院)、山口照英(日本薬科大学)、松岡佐保子、濱口功]

## 7) 血液凝固第IX因子の第3次国内標準品更新のための力価測定共同研究

現行の第2次血液凝固第IX因子国内標準品(75.0 IU/ml)の更新のため、NIBSCの血液凝固第IX因子国際標準品(7.9 IU/ampoule)を用いて、候補品の力価測定のための共同研究を行った(参加6施設:感染研、化血研、日本製薬、JB、バクスター(現バクسالタ)、CSLベアリング)。各施設の測定値の幾何平均から、第3次血液凝固第IX因子国内標準品(NS1201)の力価は、77.5 IU/mlと値付けし制定した。 [倉光球、大隈和、濱口功]

## 8) 体外診断用医薬品の二次標準品整備に関わるWHOガイドライン進捗状況

一部のWHO国際標準品は消費が非常に早く、各国や地域、メーカーは国際標準品を基準とした二次標準品を作製し、体外診断薬の管理に使用することが推奨されている。二次標準品の整備を促すため、NIBSC、PEI、WHO等が二次標準品整備のためのガイドライン作成を進めている。SoGATワーキンググループにおいて、二次標準品の定義、国際標準品との遺伝型・血清型の相違、試験数、安定性評価、凍結融解の影響、検体の不活化、解析手法等について議論がなされた。

[百瀬暖佳、水澤左衛子、松岡佐保子、濱口功]

## 3. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

### 1) 感染症安全対策体制整備事業

平成26年に約70年ぶりにデング熱が国内発生し、チクングニア熱、ウエストナイル熱等の世界の一部の地域に発生する新たな感染症の日本国内への移入が益々懸念されるようになった。新たな病原体が移入した場合に迅速に対応できるように備えるため、厚生労働省血液対策課、日本赤十字社と連携し、血液製剤の感染症リスク管理体制の構築を行うとともに、新たなリスクの早期把握と評価を行っている。本年度は、関東地域の平成27年夏季の献血検体のうち、肝機能検査等で検査落ちとなった血漿の20プール検体(合計約

2,000人分)について、デングウイルスの核酸検査を実施した。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、荒木久美子、濱口功]

### 2) Cohnの血漿分画法における実ウイルスを用いた除去不活化効果の検討

培養可能となったHCV-JFH1株を用い血液製剤の製造工程をスケールダウンした実験室レベルのCohnエタノール分画法を用いてHCVの感染性の移行を評価した。クリオ分画→8%→25%→20%エタノール処理までは感染性が残存するが、グロブリン凝集体を除く17%エタノール処理後感染性は認められなかった。薬害の時代において、HCV混入原料血漿から日本で製造されたグロブリン製剤からの感染の報告はないが、これは日本特有の分画工程である17%エタノール処理が感染性の低減化に重要である可能性が示された。

[野島清子、下池貴志(ウイルス2部)、濱口功、岡田義昭(埼玉医大)]

### 3) 組換えタンパク質を用いたHTLV-1感染症に対する新規治療法の開発

HTLV-1関連疾患であるATLは一旦発症すると、標準的で効果的な治療法がないため、未だに予後不良な疾患である。最近HTLV-1プロウイルス量が高いキャリアからATLが高率に発症することが分かってきたため、プロウイルスを保持する感染細胞を標的化し殺傷する組換えタンパク質を用いたATL発症予防法の開発に取り組んでいる。本組換えタンパク質は、感染細胞株を効率良く殺傷し、ヒト化マウス感染モデルにおいても感染を顕著に抑制し、薬剤候補としての有効性を示した。現在、より効果的で安全な薬剤の開発を目指した改良を進めている。 [大隈和、濱口功]

### 4) HTLV-1アクセサリタンパク質の構造生物学的研究

HTLV-1アクセサリタンパク質による感染制御機構を構造生物学的視点から解析を行うため、HTLV-1アクセサリタンパク質の大量発現系構築検討を行った。その結果、プレバチルス分泌発現系を用いることでRex変異体の大量発現が可能であることが分かった。精製Rex変異体は、生物学的意義は不明であるが、ある条件下で可逆的凝集を起こすことが示唆された。一方、発現タンパク質のN末端が一部切断されている可能性が示唆されたため、切断部位の同定および切断回

避のための変異導入を検討している。

[谷生道一、瀨口功]

#### 5) HTLV-1 Env 蛋白質と受容体相互作用の構造生物学的研究

HTLV-1 Env 蛋白質が宿主細胞の受容体である GLUT1/Neuropilin-1/HSPG と結合することによって、HTLV-1 の感染が起こると考えられている。HTLV-1 Env 蛋白質由来ペプチドと Neuropilin-1 B1 ドメインの分子間相互作用を解明するため、この結合様式を NMR 法で解析した。その結果、HTLV-1 Env 蛋白質由来ペプチドは Neuropilin-1 B1 ドメインの VEGF165 結合領域に結合していることを NMR 解析結果から同定した。また、HTLV-1 Env 蛋白質由来ペプチドが HTLV-1 侵入を抑制できるかを検討している。[楠英樹、松橋一彦、瀨口功]

#### 6) ヒト化マウスを用いた HTLV-1 水平感染モデルマウスの樹立

日本赤十字社での献血検査を用いた疫学検討の結果、全国で年間 3000～4000 人の新規の HTLV-1 水平感染者が発生していることが示唆された。また、各世代の HTLV-1 陽転者を詳細に解析したところ、50～60 歳の女性において陽転率が高いことが明らかとなっている。本研究では、ヒト化マウスを用いた HTLV-1 水平感染モデルマウスの樹立および HTLV-1 感染・伝播メカニズムの解明を試みている。ヒト臍帯血を移植した免疫不全マウス (NOJ マウス) に HTLV-1 感染細胞を移植し感染させた後、6 週目に解析したところ、末梢血、脾臓、肝臓および卵巣において HTLV-1 感染が確認できた。一方で、精巣には感染細胞の存在が認められなかった。現在、この免疫不全マウスで得られた結果がヒトにおける性差を反映している可能性を検証するため、STLV-1 感染サル等を用いて検証を行い、HTLV-1 感染メカニズムの解明を試みる予定である。

[斎藤益満、日吉真照、瀨口功]

#### 7) 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンを用いた革新的感染予防法の開発と安全性評価

新しい HTLV-1 感染予防策の一環として、抗 HTLV-1 抗体陽性の献血由来血漿を用いた高力価抗 HTLV-1 免疫グロブリン製剤 (HTLV-IG) の開発を目指している。抗体検査陽性検体を用いて *in vitro* 感染抑制効果を指標としてスクリーニングした結果、末梢血液中の Proviral load 4%以上の検体は強く HTLV-1 感染を阻止することを確認した。コーンのエタノール血漿分画に

よりイムノグロブリンを精製し、この HTLV-IG を用いて、HTLV-1 感染抑制能を、ヒト化マウスを用いて検討した結果、HTLV-IG に高い感染防御効果がある事が明らかとなった。本製剤は、HTLV-1 陽性の方の血液より製剤化されることから、その安全性の担保は非常に重要である。そこで、これらの HTLV-IG にウイルスが混入していないこと、感染性がないことを核酸検査及び、*in vitro* の細胞培養系で確認した。さらに現在、ヒト化マウスを用いた安全性評価を行っている。

[野島清子・水上拓郎・栗林和華子、倉光球、松本千恵子 (日本赤十字社)、佐竹正博 (日本赤十字社)、大隈和、松岡佐保子、内丸薫 (東京大学)、明里宏文 (京都大学)、山口一成、瀨口功]

#### 8) STLV-1 をモデルとした抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンの有効性の検討

新しい HTLV-1 感染予防策の一環として、抗 HTLV-1 抗体陽性の献血由来血漿を用いた高力価抗 HTLV-1 免疫グロブリン製剤 (HTLV-IG) の開発を目指している。ヒト化マウスを用いた結果、HTLV-IG に高い感染防御効果がある事が明らかとなった。そこで、ヒトに近い霊長類での有効性の検討と実現する第 1 段階として、HTLV-1 と類縁の STLV-1 においても HTLV-IG が有効かについて STLV-1 感染細胞を用いて検討した。その結果、HTLV-IG は STLV-1 感染を *in vitro* で完全に防御することが明らかとなった。さらに京都大学霊長類研究所における STLV-1 感染状態を調べた結果、母子感染が起こっていることが推測された。さらにモニターを進め、HTLV-IG を用いた母子感染予防の対象となる適切な個体がいるか調査する。

[野島清子・明里宏文 (京都大学)・水上拓郎・栗林和華子、倉光球、松本千恵子 (日本赤十字社)、佐竹正博 (日本赤十字社)、大隈和、松岡佐保子、内丸薫 (東京大学)、山口一成、瀨口功]

#### 9) HTLV-1 感染における細胞間 Nanotube の機能解明

近年、細胞間を直接連結する Nanotube という構造を介して細胞間の情報伝達が行われることが明らかにされた。この Nanotube は、特にマクロファージや樹状細胞において特異的に発現する M-Sec によって形成が促進されることがわかっている。これまでに我々は、HIV-1 は Nanotube の機能を逆にとり、Nanotube 形成を促進して Nanotube を介して細胞間感染を広げることを明らかにしてきた。今回、HTLV-1 における M-Sec 誘導 Nanotube の役割を解析した。その結果、本来は

M-Sec が発現しない T 細胞が、HTLV-1 感染すると M-Sec が強制的に発現することを明らかにした。さらに、HTLV-1 感染 T 細胞は Nanotube 様の構造が観察され、そこには HTLV-1 のエンベロープタンパク質 (gp46) が局在することがわかった。現在、HTLV-1 感染 T 細胞でみられる Nanotube が HTLV-1 感染にどのように関与するのか解析を行っている。

[日吉真照、鈴伸也 (熊本大学)、大野博司 (理化学研究所)、相良康子 (日本赤十字社)、濱口功]

#### 10) 早期 ATLL 発症マウスにおける発症原因遺伝子の探索

HTLV-1 感染から成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ATL) 発症までにはおよそ 50 年以上を要する。ATL の高頻度かつ複雑な染色体異常は、長い年月の間のさまざまな遺伝子変異の蓄積が発症原因であることを意味する一方、ゲノム解析技術が発達した今日でも発症原因遺伝子の特定を困難にさせている要因である。われわれが作製した ATL 発症ヒト化マウスは極めて有用なツールと考えられる。なぜならこのマウスでは HTLV-1 感染後わずか 8 週間で ATL を発症するため、染色体異常が単純かつ必要最小限の遺伝子変異だけが誘導されている可能性が高い。そこでわれわれはヒト化マウス由来 ATL から発症原因遺伝子の同定を目的に研究を行っている。 [斎藤益満、日吉真照、濱口功]

#### 11) HTLV-1 水平感染の疫学的検討

HTLV-1 の主たる感染ルートである母乳感染は妊婦検診での HTLV-1 抗体検査等の対策が取られるようになったが、HTLV-1 の水平感染については研究が進んでいない。日本赤十字社の献血検査を用いた疫学的検討により、全国で推計で年間 3000~4000 人の新規 HTLV-1 水平感染者が発生していることが明らかになった。そこで HTLV-1 水平感染者の病態の進行等のリスク評価を実施する目的で、献血時検査で陽転化した HTLV-1 水平感染者を追跡調査する体制基盤 (HTLV-1 水平感染者登録システム) を倫理指針に準拠し構築した。H26 年 12 月から福岡県の HTLV-1 水平感染献血者を対象に、日本赤十字社九州ブロック血液センターよりシステムに関する案内の送付を開始し、本年度は東京都でも同様のシステム稼働を目指すべく準備をすすめた。

[松岡佐保子、佐竹正博 (日本赤十字社)、岩永正子 (長崎大学)、相良康子 (日本赤十字社)、濱口功]

#### 12) 日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究

2007 年に開始した輸血製剤による副作用全数把握に向けてのサーベイランスシステムに、今年度までに全国の半数以上の大学病院と 300 床以下の 5 病院が参加し、全国網羅のシステムの構築に向けての基盤作りを進めている。厚労科学研究「ヘモビジランス (血液安全監視) 体制のあり方に関する研究」班において、血液製剤の製造から医療機関での使用・廃棄するまでを追跡・確認できるトレーサビリティシステムの実施に向け、日本赤十字社と 16 医療施設にて 1 ヶ月間のパイロットスタディを実施した。また、診療科別の輸血副作用発生調査、インシデントの捕捉、臨床現場の教育プログラム作成など我が国のヘモビジランス体制の拡充をめざす研究活動も進めている。

[小高千加子、大隈和、松岡佐保子、濱口功]

#### 13) B 型肝炎ウイルス X 蛋白質 (HBx) による細胞死制御機構の解明に向けた構造生物学的研究

HBx はアミノ酸 154 残基からなる蛋白質で、Bcl-x<sub>L</sub> (抗アポトーシス蛋白質) と相互作用し、細胞死を誘導することが知られている。そこで、HBx の BH3 様モチーフに着目し、Bcl-x<sub>L</sub> との相互作用を NMR で解析した。その結果、HBx BH3 様モチーフ含有ペプチドは、他の BH3 ペプチドと同様に Bcl-x<sub>L</sub> の疎水性領域に結合することが明らかになった。また、HBx BH3 様モチーフにあるトリプトファン残基が Bcl-x<sub>L</sub> の結合に重要であることを見出した。 [楠英樹、濱口功]

## II. 品質管理に関する業務、研究

### 1. 血液製剤

#### 1) 抗補体性否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションについての研究

静注用グロブリンの抗補体性否定試験は、アナフィラキシー等の副反応の原因となるグロブリン凝集体に起因する非特異的な補体活性化能が一定以下であることをバイオアッセイで確認する試験である。血液製剤メーカーの品質管理部との共同研究により抗補体価を定めた参照品候補品を作製し、2 年間の仮運用の成績を評価した結果、本参照品候補品は参照品として有効であることが示された。抗補体価を定めた「抗補体性否定試験国内参照品」を整備した。参照品の値を基に相対的に抗補体価を算出することにより、これまで問題で

あった試験誤差、および施設間差が小さくなることが示された。 [野島清子、大隈和、濱口功]

## 2) 免疫グロブリン G 重合体否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションについての研究

グロブリン重合体は非特異的に補体系を活性化しアナフィラキシーショック等の副反応を生じる可能性がある。本試験は重合体含量が 1.0%以下であることを確認する試験であるが、製剤中には補体価活性化能を示す三量体が含まれることが明らかとなった。血液製剤メーカーとの共同研究により、三量体を含む分析参照品を整備し、三量体を分離する条件で試験を実施することを旨とし、生物学的製剤基準の新規格値を決定した。現在の分析技術に見合った分析方法で品質管理を実施することにより製剤の安全性を確保に貢献できると考えられる。 [野島清子、大隈和、濱口功]

## 3) ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤のヒスタミン確認試験の検討

ヒスタミン確認試験は、ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤からグリック法で抽出したヒスタミンをろ紙クロマトグラフ法で確認すること、抽出液に O-フタルアルデヒドを加え蛍光を測定する時、その蛍光度が、ヒスタミン二塩酸塩 0.5 μg に O-フタルアルデヒドを加え発色させた蛍光度以下であることを確認する試験である。本研究では、抽出液に O-フタルアルデヒドを加え蛍光を測定する時、蛍光スキンスペクトルパターン（励起 360nm、発光波長 390-600nm）とその極大値（450nm 付近）を得ることで、ヒスタミンの確認と基準蛍光度以下であることを精度よく確認ができることを検証した。また、ヒスタミンデヒドロゲナーゼを用いた酵素反応法が当該製剤のヒスタミンの確認と定量にも適している可能性が示唆された。現在、HPLC/UPLC 法を当該製剤のヒスタミン確認試験として導入することを目的として、メーカーと共同研究を実施しているところである。

[楠英樹、谷生道一、濱口功]

## 4) 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

血液製剤への SLP 審査制度導入に向けて、ワーキンググループを作成し活動を開始した。血液製剤の国家検定は年間 500 ロットを超え、すべて当部で総合判定を実施している。まずグロブリン約 220 ロットについて先行して導入し、他の血液製剤についても順次導入

する方向を定め、SLP 審査導入に向けた作業計画を立て準備を開始した。血液製剤への SLP 審査が導入により我が国のロットリリースで、安全性や有効性に関する国家検定に加えて、製剤が承認書通りに製造されているかについても確認するシステムが構築され、国民に貢献出来ることが期待される。

[野島清子、大隈和、松岡佐保子、楠英樹、水上拓郎、佐々木永太、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）、近田俊文（品質保証・管理部）、加藤篤（品質保証・管理部）、濱口功]

## 2. ワクチン・抗生物質

### 1) 新規ワクチン承認前試験における異常毒性否定試験

#### (1) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン（化学及血清療法研究所）

承認前試験としての当該ワクチンの異常毒性否定試験を生物基の一般試験法に従って実施した。提出された全ロットを用いて母集団を作成し、判定評価用として試験に用いた。その結果、試験成績においては、提出された全ロットにおいて基準を満たしていた。

[佐々木永太、水上拓郎、益見厚子、平松竜司、古畑啓子、高井麻海子、濱口功]

#### (2) 組換え沈降 9 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン（酵母由来）（MSD 株式会社）

承認前試験としての当該ワクチンの異常毒性否定試験を生物基の一般試験法に従って実施した。当該ワクチンにおいては、メーカーの自家試験に従い、注射用水により 1:1 に混和したものを検体とした。提出された全ロットを用いて母集団を作成し、判定評価用として試験に用いた。その結果、病理評価を含めた試験成績においては、提出された全ロットにおいて基準を満たしていた。

[佐々木永太、水上拓郎、古畑啓子、高井麻海子、濱口功]

#### 2) 組換え沈降 9 価ヒトパピローマウイルス粒子ワクチン（酵母由来）（MSD）

当該ワクチンのアルミニウム含量試験を製造所 SOP と感染研 SOP に従って、誘導結合プラズマ (ICP) 法により実施した。その結果、各 SOP で得られた感染研試験値は、互いに良い一致を示し、全ロットにおいて規格値を満たした。全ロットで感染研値は、自家試験値

よりもやや高い値を示したが、これは施設間差であることが推定された。 [谷生道一、楠英樹]

### 3. 体外診断薬用医薬品

#### 1) B型肝炎ウイルス表面抗原キットの承認前試験

当該体外診断用医薬品1キットにつき、正確性試験、同時再現性試験、ロット間差試験、および既承認品との比較試験を実施した。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、大隈和、濱口功]

#### 2) ABO式血液型キット、Rh式血液型キット(ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体)の承認前試験

抗A血液型判定用抗体、抗B血液型判定用抗体、抗D血液型判定用抗体につき、特異性試験、および力価試験の2試験を実施した。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、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) 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

ワクチンの安全性評価法は、ワクチン接種動物に見られる生体変化を指標としている事が多い。一方で、動物愛護の観点から動物試験に代わる試験法の構築も求められている。インフルエンザワクチンの安全性評価における *in vitro* 試験の可能性を検討するため、ラット肺初代培養細胞に毒性参照品を添加し、我々が同定した安全性評価のためのマーカー遺伝子群の発現解析を行った。その結果、17のマーカー遺伝子中5~9遺伝子で発現の亢進が認められ、*in vitro* 安全性評価系構築の可能性が示唆された。

[百瀬暖佳、佐々木永太、水上拓郎、濱口 功]

#### 2) 結核ブースターワクチンのマウスでの遅延型過敏反応 (DTH) による最適化の検討

ヒト細胞での *in vitro* のサイトカイン産生実験を参考にして、マウスを用いて混合比の最適化のための実験を行った。その結果、MDP1免疫による強いDTHは認められた一方、G9.1によるDTH増強作用、各混合比にDTHの有意差は認められなかった。これは、足蹠反応がMDP1単独免疫で生じる反応の最大値程度であったことが考えられる。*in vitro* での実験で求められたMDP1とG9.1の相乗作用を示す混合比の幅が広く、さらにそのサイトカイン産生作用に有意差が出ないとい

うことから、その比を用いたマウスでもDTHに有意差は得られなかったと考えられる。また、これにはBCGによるプライミングを行わなかったことも考慮する必要があると考えられる。

[前山順一; 山崎利雄、山本三郎 (バイオセーフティ管理室); 網康至 (動物管理室); 伊保澄子 (福井大); 松本壮吉 (新潟大)]

#### 3) 結核ブースターワクチンのモルモットでの遅延型過敏反応 (DTH) による最適化の検討

結核抗原MDP1とアジュバントとしてG9.1を用いたワクチン候補の最適化のため、抗原アジュバントの比や免疫条件をモルモットで検討した。抗原アジュバントの混合比は、MDP1とG9.1のモル比等を検討したところ、免疫期間が短期間でもDTHが観察され、さらに免疫期間を長く取った場合、モル比の約1:3、1:1で、目標であった10mm以上のDTHがMDP1およびPPDに対して認められた。

[前山順一、山崎利雄、山本三郎 (バイオセーフティ管理室)、網康至 (動物管理室)、伊保澄子 (福井大)、松本壮吉 (新潟大)]

#### 4) BCGワクチンを免疫したモルモットでの結核菌感染時の免疫細胞動態

BCG免疫、非免疫モルモットのレジデント肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージならびに腹腔マクロファージの分離方法を確立できた。肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージならびに腹腔マクロファージの細胞表面抗原の発現をFlow cytometerで分析し各々の特徴を明らかにした。その結果、肺胞マクロファージと肺組織マクロファージは腹腔マクロファージに比べ抗原提示能が低いことが示唆された。結核菌感染後の肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージ、腹腔マクロファージ細胞表面抗原の変動ならびに血液、脾臓、肺のリンパ球中のCD4、CD8、B cellの比率の変動については現在得られたデータを詳細に解析中である。

[前山順一、山崎利雄、山本十糸子、山本三郎 (バイオセーフティ管理室)]

#### 5) 網羅的遺伝子発現解析による革新的アジュバント安全評価法の開発

ワクチン開発において、免疫原性やワクチンデリバリー能を高める目的で添加されるアジュバントの研究・開発の重要性が増している。アジュバントの安全

性に関しては、その作用機序が複雑であることもあり、当初予想し得なかった反応性を示す可能性も否定できない。そこで、アジュバントに関し、その安全性の指標となるバイオマーカーを網羅的に収集する目的で、平成 24 年度よりアジュバントデータベースの作成を行い、平成 27 年度は我々の同定したマーカー遺伝子を用いて、アジュバント含有インフルエンザの品質管理が可能か検討した。アジュバントとしては、現在臨床開発がなされ、精力的な開発が進んでいる CpG K3 アジュバントを選択した。その結果マーカー遺伝子はアジュバントとワクチンによる相乗的な免疫原性を反映し、アジュバント含有ワクチンの評価が可能であることが示された。さらに、米国においてすでに承認されている経鼻ワクチン等の試験を考慮し、経鼻接種における評価を実施したところ、マーカー遺伝子は経鼻接種によるワクチン・アジュバント評価にも適用可能であることが示された。

[佐々木永太、水上拓郎、百瀬暖佳、栗林和華子、倉光球、濱口功]

#### 6) インフルエンザワクチン接種時に認められる白血球減少ならびにマーカー遺伝子発現における肺リンパ球変化とその機能解析

白血球減少試験は、国家検定として、ワクチンの安全性試験の一環として実施されている試験である。また、インフルエンザワクチンの安全性指標となるバイオマーカーを網羅的に収集する目的で、平成 24 年度より独立行政法人 医薬基盤研究所・大阪大学と協力し、アジュバントデータベースの作成を行って来た。これまでの結果から、白血球減少と肺におけるマーカー遺伝子の発現には相関が認められることから、肺において、白血球減少やワクチンの毒性発現に関与する現象が惹起されているものと推察し、肺におけるリンパ球を解析した。その結果、白血球減少を示すワクチンにおいては、CD4+細胞、CD8+細胞および B220+ B 細胞が血中および肺において顕著に減少するが、CD11c+ B220+または CD11c+PDCA-1+pDC の増加が認められた。また、肺における pDC 数はマーカー遺伝子発現と相関傾向を示していた。今後、ワクチン接種時の肺における pDC の機能的役割について解析を行う予定である。

[佐々木永太、水上拓郎、栗林和華子、濱口功]

#### 7) 末梢血ヒト化マウスならびに PBMC 培養系を用いたワクチン安全性評価の検討

これまでに、インフルエンザワクチンの安全性指標

となるマーカー遺伝子を同定し、ラットやマウスを用いた検討において、有用な評価系であることが示されている。そこで、マーカー遺伝子による評価がヒトに外挿可能か検討するため、ヒト化マウスを用い、マーカー遺伝子発現が認められるか検討した。PBMC を重度免疫不全マウスである NOG マウスに PBMC を移植し、肺、脾臓および血液においてヒトリンパ球の定着が認められる末梢血ヒト化マウスを作成した。このマウスに、インフルエンザワクチンを接種し、ヒトマーカー遺伝子発現量を解析したところ、一部のマーカー遺伝子の発現上昇が認められた。また、*in vitro* PBMC 培養細胞にインフルエンザワクチンを添加したところ、一部のマーカー遺伝子の発現上昇が認められた。今後は複数 lot の PBMC での検討や、再現性を得るための実験を実施する予定である。

[佐々木永太、水上拓郎、栗林和華子、濱口功]

### IV. 血液に関する研究

#### 1) 造血幹細胞特異的チロシンキナーゼ Tie の機能解析

Tie ファミリーは血管内皮細胞に加え、造血幹細胞に高発現している受容体型チロシンキナーゼである。近年、造血幹細胞と巨核球の遺伝子発現パターンの類似性が指摘され、造血幹細胞に加えて巨核球や血小板における Tie ファミリーの機能にも興味を持たれる。そこで、野生型、活性化型、不活性化型の Tie を発現させた血液細胞を準備し、細胞増殖活性、各種阻害剤等の添加効果を検討している。 [百瀬暖佳、濱口功]

#### 2) ATL モデルマウスにおける ATL 癌幹細胞特性の解明とニッチを標的とした治療薬の開発

我々は ATL 様病態のモデルマウス (HTLV-1 Tax-Tg) の脾腫中に存在する癌幹細胞に注目し、ATL 癌幹細胞と ATL 発症との関係解明のために研究を進めている。ATL 進行時の各種ストローマ細胞や微小環境の変化を FACS 及び組織学的に検討した所、脾臓では血管内皮が、骨髄では Fibroblastic reticular cells や血管内皮細胞の顕著な増加が認められた。また骨髄では破骨細胞の異常な増加と活性化が認められ、高カルシウム血症の原因となっている可能性が示唆された。これらのニッチ細胞を標的とした治療薬の開発を試みた結果、破骨細胞の阻害剤の投与によって抗がん剤の効果が促進され、生存期間が延長した。また、阻害剤によって高カルシウム血症の状態が改善するが、最終的には脾臓への浸潤等により ATL を発症することからも、今後は

脾臓における標的の探索を進め、ニッチを標的とした治療法の開発を行う。

[水上拓郎、栗林和華子、長谷川秀樹(感染病理部)、William Hall (University College Dublin)、濱口功]

### 3) ATL モデルマウスである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL 癌幹細胞の同定

我々は ATL 様病態のモデルマウス (HTLV-1 Tax-Tg) の脾腫中に癌幹細胞が存在する事を明らかにしてきた。近年、京都大学の松岡らによって作出された HTLV-1 HBZ 遺伝子組換えマウス (HBZ-Tg) においても、ATL 様の病態が発生する事が報告された。そこで、HBZ-Tg 由来の腫瘍において癌幹細胞特性を有する細胞が存在するかを検討した。その結果、薬剤排出能の高い SP 細胞が HBZ-Tg 由来の腫瘍中に低頻度で存在し、更に SP 細胞中には c-kit 陽性細胞が濃縮して存在している事が明らかとなった。これらの細胞を移植する事で、幹細胞特性を有している事を明らかにし、さらに ATLS Cs の増殖に SCF シグナリングが重要なことを in vitro 及び in vivo で明にした。

[栗林和華子、水上拓郎、松岡雅雄 (京都大学)、濱口功]

## V. 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：84 ロット

(血液凝固第Ⅷ因子力価試験：42、アンチトロンビンⅢ力価試験：26、ハプトグロビン力価試験：4、活性化第Ⅶ因子力価試験：2、第Ⅹ因子力価試験：2、抗 HBs 人免疫グロブリン力価試験：2、乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン力価試験：2、ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン力価試験：1、乾燥抗 D 人免疫グロブリン力価試験：3)

免疫グロブリン G 重合体否定試験：136 ロット

抗補体性否定試験：68 ロット

含湿度試験：159 ロット

ホルムアルデヒド含量試験：32 ロット

たん白質含量試験 (ローリー法)：117 ロット

たん白窒素含量試験：8 ロット

凝固性たん白質含量及び純度試験：4 ロット

アルミニウム含量試験 (スチルバゾ)：1 ロット

アルミニウム含量試験 (ICP)：19 ロット

フェノール含量試験：13 ロット

ヘモグロビン含量試験：4 ロット

クエン酸ナトリウム含量試験：4 ロット

MPL 含量試験：1 ロット

異常毒性否定試験：217 ロット

発熱試験：35 ロット

### 2. 収去試験

抗 A 血液型判定用抗体：3 ロット

抗 B 血液型判定用抗体：3 ロット

抗 D 血液型判定用抗体：5 ロット

抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2 ロット

### 3. 抜き取り検査

血液凝固第Ⅸ因子力価試験：5 ロット

活性化凝固因子否定試験：5 ロット

たん白窒素含量試験：5 ロット

含湿度試験：2 ロット

pH 試験：2 ロット

ヒスタミン含量試験：2 ロット

### 4. 依頼検査

たん白質含量試験 (ローリー法)：2 ロット

チメロサル含量試験：2 ロット

### 5. 承認前検査

アルミニウム含量試験：3 サンプル

異常毒性否定試験：5 サンプル

### 6. 行政検査

異常毒性否定試験：2 ロット

### 7. 総合判定

#### (国家検定項目)

乾燥人フィブリノゲン：4 ロット

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子：42 ロット

乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：26 ロット

人ハプトグロビン：4 ロット

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅹ因子加活性第Ⅶ因子：2 ロット

筋注用人免疫グロブリン：6 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：68 ロット

pH 4 処理酸性人免疫グロブリン：23 ロット

乾燥 pH 4 処理人免疫グロブリン：8 ロット

PEG 処理人免疫グロブリン：31 ロット

乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン：56 ロット  
pH4 処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）：13 ロット  
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット  
抗破傷風人免疫グロブリン：2 ロット  
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット  
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン：1 ロット  
抗 HBs 人免疫グロブリン：2 ロット  
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抗 HBs 人免疫グロブリン：1  
ロット  
乾燥抗 D 人免疫グロブリン：3 ロット  
人血清アルブミン：201 ロット  
加熱人血漿たん白：7 ロット

#### (抜き取り検査項目)

血液凝固第 IX 因子製剤（複合体を含む）：5 ロット  
ヒスタミン加人免疫グロブリン：2 ロット

#### (収去試験項目)

抗 A 血液型判定用抗体：3 ロット  
抗 B 血液型判定用抗体：3 ロット  
抗 D 血液型判定用抗体：5 ロット  
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2 ロット

#### 8. 体外診断用医薬品の承認前検査

- 1) B型肝炎ウイルス表面抗原キット：1キット(3ロット)
- 2) ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体：1 件(3 ロット)

#### 国際協力関係業務 研修業務

- 1) 2015 年 6 月 11 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]
- 2) 2015 年 7 月 21 日：知の市場において、「感染症と癌/成人性 T 細胞白血病」の講義を行った。[水上拓郎]
- 3) 2015 年 9 月 29 日：知の市場後期講義において、「血液製剤の品質管理」の講義を行った。 [大隈和]
- 4) 2015 年 10 月 29 日：医師卒後臨床研修プログラムにおいて、「血液製剤の品質管理」の講義を行った。

[大隈和]

5) 2016年2月2日： JICA研修「安全な輸血医療による感染予防」コースで、ヘモビリジンの講義を担当した。  
[濱口功]

6) 2016年2月2日： JICA研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」コースで、物理化学試験の講義を担当した。  
[楠英樹]

#### 発表業績一覧

##### I. 誌上発表

##### 1. 欧文発表

- 1) Kuramitsu M, Okuma K, Yamochi T, Sato T, Sasaki D, Hasegawa H, Umeki K, Kubota R, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Naruse I, Yamagishi M, Nakashima M, Momose H, Araki K, Mizukami T, Mizusawa S, Okada Y, Ochiai M, Utsunomiya A, Koh K-R, Ogata M, Nosaka K, Uchimar K, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Satake M, Okayama A, Mochizuki M, Izumo S, Saito S, Itabashi K, Kamihira S, Yamaguchi K, Watanabe T, Hamaguchi I: Standardization of quantitative PCR for human T-cell leukemia virus type 1 in Japan: A collaborative study. *J. Clin. Microbiol.* 2015;53(11):3485-3491.
- 2) Hashimoto M, Nasser H, Bhuyan F, Kuse N, Satou Y, Harada S, Yoshimura K, Sakuragi J, Monde K, Maeda Y, Welbourn S, Strebel K, Abd El-Wahab EW, Miyazaki M, Hattori S, Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Oka S, Takiguchi M, Suzu S. Fibrocytes Differ from Macrophages but Can Be Infected with HIV-1. *J. Immunol.*, 195, 4341-4350, 2015.
- 3) Hiyoshi M, Okuma K, Tateyama S, Takizawa K, Saito M, Kuramitsu M, Araki K, Morishita K, Okada S, Yamamoto N, Biragyn A, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Furin-dependent CCL17-fused recombinant toxin controls HTLV-1 infection by targeting and eliminating infected CCR4-expressing cells in vitro and in vivo. *Retrovirology*, 12: 73, 2015.
- 4) Okuma K, Fukagawa K, Tateyama S, Kohma T, Mochida K, Hiyoshi M, Takahama Y, Hamaguchi Y, Hirose K, Buonocore L, Rose JK, Mizuochi T, Hamaguchi I. Development of an infectious surrogate hepatitis C virus

based on a recombinant vesicular stomatitis virus expressing hepatitis C virus envelope glycoproteins and green fluorescent protein. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 68, 203-208, 2015.

5) Kobayashi M, Yoshizumi S, Kogawa S, Takahashi T, Ueki Y, Shinohara M, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Sasaki Y, Suzuki R, Shimizu H, Iwakiri A, Okabe N, Shirabe K, Shinomiya H, Kozawa K, Kusunoki H, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolution of the Capsid Gene in Norovirus Genogroup I. *Sci. Rep.* 5: 13806, 2015

6) Momose H, Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Masumi A, Araki K, Furuhashi K, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Establishment of a new quality control and vaccine safety test for influenza vaccines and adjuvants using gene expression profiling. *PLoS One*. 2015; 10: e0124392.

7) Sasaki E, Iida A, Oda S, Tsuneyama K, Fukami T, Nakajima M, Yokoi T, Pathogenetic analyses of carbamazepine-induced liver injury in F344 rats focused on immune- and inflammation-related factors. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2016; 68, 27–38,

8) Hashimoto M, Bhuyan F, Hiyoshi M, Noyori O, Nasser H, Miyazaki M, Saito T, Kondoh Y, Osada H, Kimura S, Hase K, Ohno H, Suzu S, Potential Role of the Formation of Tunneling Nanotubes in HIV-1 Spread in Macrophages 2016, *J. Immunol.* 2016; 196, 1832-1841.

9) Isaka M, Tatsuno I, Maeyama J, Matsui H, Zhang Y, Hasegawa T. The YvqE two-component system controls biofilm formation and acid production in *Streptococcus pyogenes*. *APMIS*. 2016, 124(7), 574-85.

10) Buono M, Facchini R, Matsuoka S, Thongjuea S, Waithe D, Luis TC, Giustacchini A, Besmer P, Mead AJ, Jacobsen SE, Nerlov C. A dynamic niche provides Kit ligand in a stage-specific manner to the earliest thymocyte progenitors. *Nat. Cell. Biol.*, 2016; 18:157- 67.

11) Kuribayashi W, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Sasaki E, Hiradate Y, Furuhashi K, Asada Y, Iwama A, Matsuoka M, Mizukami T, Hamaguchi I. Impact of the SCF signaling pathway on leukemia stem cell-mediated ATL initiation and progression in an HBZ transgenic mouse model. *Oncotarget*, in press

12) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H, Red cell reduced glutathione is a novel biomarker of Diamond- Blackfan Anemia. *Blood Cell. Mol.*

*Dis.*, in press

13) Ohsaka A, Kato H, Kino S, Kawabata K, Kitazawa J, Sugimoto T, Takeshita A, Baba K, Hamaguchi M, Fuji Y, Horiuchi K, Yonemura Y, Hamaguchi I, Handa M, on behalf of the Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy Working Party on Safety Management of Blood Transfusions: Recommendations for the electronic pre-transfusion check for blood administration at the bedside. *Blood Transfusion*, In press

14) Satake M, Iwanaga M, Sagara Y, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I. Incidence of new HTLV-1 infections among adolescents and adults in Japan: a nationwide retrospective cohort analysis of repeat blood donors. *The Lancet Infectious Diseases* In press

15) Masumi A, Mochida K, Takizawa K, Mizukami T, Kuramitsu M, Tsuruhara M, Mori S, Shibayama K, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Mycobacterium avium infection induces the resistance of the interferon- $\gamma$  response in mouse spleen cells at late stages of infection. *Inflammation and Regeneration* In press

16) Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Nojima K, Araki K, Shinohara N, Matsumoto C, Satake M, Takasaki T, Saijo M, Kurane I, Hamaguchi I. Development of a novel dengue virus serotype-specific multiplex real-time RT-PCR assay for blood screening *Transfusion* In press

## 2. 和文発表

1) 濱口功：ヘモビジランス-重篤輸血副作用の把握に向けて、医学のあゆみ、253:613-617, 2015

2) 岩尾憲明、加藤栄史、小高千加子、高本滋、佐川公矯、藤井康彦、米村雄士、田中朝志、岡崎仁、岡田義昭、大日康史、野村久子、松下明夫、北澤淳一、森宏、八十嶋仁、大隈和、山口一成、大坂顯通、濱口功：輸血副作用サーベイランスにおける underreporting、日本輸血細胞治療学会誌、6(16):561—566, 2015

3) 濱口功：ワクチン開発をめぐるレギュレーションの最近動向について、薬剤学、76: 51-54, 2016

4) 濱口功：輸血と感染症（小児と感染症）、小児科、印刷中

5) 藤井康彦、田中朝志、小高千加子、加藤栄史、米村雄士、藤島直仁、佐々木さき子、奈良崎正俊、大澤俊也、田崎哲典、吉場史朗、岩尾憲明、越知則予、小林洋子、橋本誠、児玉るみ、川野洋之、竹ノ内博之、金光靖、野間口由利子、紀野修一、五十嵐滋、石井博之、大谷慎一、大隈和、岡崎仁、北澤淳一、日野学、百瀬

俊也、濱口功、診療科別輸血製剤副作用発生率の調査、  
日本輸血細胞治療学会誌、印刷中

## II. 学 会 発 表

### 1. 国際学会

1) Mizukami T, Nojima K, Matsumoto C, Kuribayashi W, Sobata R, Kuramitsu M, Furuhata K, Matsuoka S, Okuma K, Masahiro S, Tadokoro K, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Immunoglobulin prophylaxis against human t cell lymphotropic virus type I prevents infection in a humanized mouse model. European Hematology Association (EHA) Congress, オーストリア、ウィーン、2015年6月

2) Kuribayashi W, Mizukami T, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Nozima K, Momose H, Asada Y, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. IDENTIFICATION OF LEUKEMIC STEM CELL CANDIDATES IN AN ATL MOUSE MODEL OF HBZ TRANSGENIC MICE. European Hematology Association (EHA) Congress, オーストリア、ウィーン、2015年6月

3) Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Kenji Sugata, Madoka Kuramitsu, Haruka Momose, Atsushi Iwama, Isao Hamaguchi. Identification of ATL stem cells in an ATL model HBZ transgenic mouse. International Society of Experimental Hematology, 京都、2015年9月

4) Tiago C. Luis, Sidinh Luc, Takuo Mizukami, Hanane Boukarabila, Supat Thongjuea, Petter S. Woll, Emanuele Azzoni, Michael Lutteropp, Tiphaine Bouriez-Jones, Harsh Vaidya, Adam J. Mead, Deborah Atkinson, Charlotta Böiers, Joana Carrelha, Iain C. Macaulay, Roger Patient, Claus Nerlov, Rickard Sandberg, Marella F.T.R. de Bruijn, C. Clare Blackburn, Isabelle Godin, Sten Eirik W. Jacobsen. Embryonic thymopoiesis is initiated by an immune-restricted lympho-myeloid progenitor independently of Notch signaling. International Society of Experimental Hematology, 京都、2015年9月

5) Yamamoto S, Yamamoto T, Hayashi D, Iho S, Matsumoto S and Maeyama J. Discovery of CpG-DNA and Research on Novel TB Vaccine Candidate Development, 50th U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, TB, Leprosy Panel, アメリカ、ベテスダ、2016年1月

### 2. 国内学会

1) 田崎哲典、岡崎仁、稲田英一、桑名和善、荒屋潤、塩野則次、藤井康彦、濱口功、星順隆、飯島毅彦、名取一彦、相葉恵介、矢野慎吾、佐竹正博、中島文明、梶本昌子、長谷川智子. TRALII/TACOの診断基準とアルゴリズム. 第63回日本輸血細胞治療学会、東京、2015年4月

2) 濱口功. ヘモビジュランスがタスクフォースに期待すること. 第63回日本輸血細胞治療学会、東京、2015年4月

3) 北澤淳一、加藤栄史、岡田義昭、藤井康彦、米村雄士、田中朝志、岡崎仁、百瀬俊也、佐川公矯、岩尾憲明、松下明夫、野村久子、高本滋、山口一成、濱口功. 「輸血製剤副作用情報収集システム」における輸血副作用の現状. 第63回日本輸血細胞治療学会、東京、2015年4月

4) 水澤左衛子、落合雅樹、内田茂治、高倉明子、内田恵理子、山口照英、浜口功. パルボウイルス B19 国内標準品作製のための共同研究. 第63回日本輸血細胞治療学会、東京、2015年4月

5) 相良康子、井上由紀子、守田麻衣子、後藤信代、倉光球、大隈和、濱口功、蕎麦田理英子、松本知恵子、迫田岩根、入田和男、清川博之. HTLV-1 感染確認検査に関する考察-WB 陰性プロウイルス陽性事例について -. 第63回日本輸血細胞治療学会、東京、2015年4月

6) 井上由紀子、倉光球、相良康子、守田麻衣子、後藤信代、大隈和、濱口功、迫田岩根、入田和男、清川博之. HTLV-1 感染初期に観察されたプロウイルス量の抑制現象. 第63回日本輸血細胞治療学会、東京、2015年4月

7) 水上拓郎、百瀬暖佳、倉光球、平松竜司、益見厚子、栗林和華子、古畑啓子、高井麻海子、山田弘、石井健、濱口功. バイオマーカーを用いたアジュバント添加インフルエンザワクチンの次世代安全性評価法の開発. 第42回日本毒性学、金沢、2015年6月

8) 相良康子、守田麻衣子、井上由紀子、倉光球、大隈和、後藤信代、平山秀明、岩永正子、矢持忠徳、渡邊俊樹、濱口功、迫田岩根、入田和男、清川博之. 九州の HTLV-1 水平感染の現状と感染初期の産生交代による PVL 抑制効果. 第2回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2015年8月

9) 倉光球、大隈和、矢持忠徳、山野嘉久、長谷川寛雄、上平憲、岡山昭彦、久保田龍二、出雲周二、成瀬功、相良康子、佐竹正博、渡邊俊樹、山口一成、濱口功. HTLV-1 核酸検査の標準化および検出感度の検討：多施設共同研究. 第2回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、

2015年8月

10) 大隈和、日吉真照、滝澤和也、齋藤益満、倉光球、瀧口功. TARC 結合組換えトキシンによる CCR4・Furin 依存的な HTLV-1 感染制御. 第 2 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2015 年 8 月

11) 水上拓郎, HTLV-1 感染防止を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤の開発. 第 2 回 HTLV-1 学会公開学術シンポジウム—HTLV-1 ワクチン開発の現状—, 東京、2015 年 8 月

12) 栗林和華子, 水上拓郎, 滝澤和也, 倉光球, 浅田善久、岩間厚志、松岡雅雄、瀧口功. HBZ-Tg マウスモデルにおける癌幹細胞の機能解析. 第 2 回 HTLV-1 学会、東京、2015 年 8 月

13) 佐々木永太, 水上拓郎, 百瀬暖佳, 蒲地一成、山田弘、石井健、瀧口功. ヒト化マウスを用いたインフルエンザワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法開発の試み. 第 22 回日本免疫毒性学会学術年会、京都、2015 年 8 月

14) 水上拓郎, 野島清子, 栗林和華子, 倉光球, 蕎麦田理英子, 松本千恵子, 古畑啓子, 佐藤結子, 大隈和, 佐竹正博, 田所憲治, 山口一成, 瀧口功. ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染モデルの構築と抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる感染 防御法の開発. 第 158 回日本獣医学会, 十和田, 2015 年 9 月

15) Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Masao Matsuoka, Isao Hamaguchi. The c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells development and differentiation in ATL model mice. 日本癌学会、名古屋、2016 年 10 月

16) Takuo Mizukami, Kiyoko Nojima, Wakako Kuribayashi, Madoka Kuramitsu, Kazu Okuma, Sahoko Matsuoka, Keiko Furuhashi, Rieko Sobata, Chieko Matsumoto, Masahiro Satake, Kenji Tadokoro, Kazunari Yamaguchi, Isao Hamaguchi. Evaluation of HTLV-1 hyperimmune globlins against HTLV-1 infection in a humanized mouse model. 第 77 回日本血液学会, 金沢, 2015 年 10 月

17) Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Kenji Sugata, Madoka Kuramitsu, Kiyoko Nojima, Haruka Momose, Yoshihisa Asada, Atsushi Iwama, Masao Matsuoka, Isao Hamaguchi. The c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells development and differentiation in ATL model mice. 第 77 回日本血液学会, 金沢, 2015 年 10 月

18) 佐々木永太, 水上拓郎, 百瀬暖佳, 蒲地一成、瀧

口功. ワクチン・アジュバントの新規安全性評価法構築のための基盤研究. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会、犬山、2015 年 11 月

19) Maeyama J, Hayashi D, Suzuki F, Ozeki Y, Matsumoto S, Yamamoto S, Development and evaluation of new tuberculosis booster vaccine candidates, 第 44 回日本免疫学会、札幌、2015 年 11 月

20) 大隈和, 内田茂治, 出口松夫, 藤野達也, 松林圭二, 杉山真也, 百瀬暖佳, 瀧口功, 溝上雅史. 国内で使用されているHBs抗原検出/測定キットに関する性能調査: HBV genotype 既知の献血由来検体による検討. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月

21) 野島清子, 水上拓郎, 松本千恵子, 倉光球, 手塚健太, 山口一成, 大隈和, 瀧口功. HTLV-1 感染防止を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤の開発: 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月

22) 百瀬暖佳, 佐々木永太, 水上拓郎, 瀧口功. 遺伝子発現解析によるインフルエンザワクチンの安全性評価法と *in vitro* 評価系構築へ向けた試み. 第 9 回次世代アジュバント研究会. 大阪. 2016 年 1 月

23) 瀧口功. アジュバント含有ワクチンの新しい安全性評価法の開発 第 9 回次世代アジュバント研究会. 大阪. 2016 年 1 月

24) 佐々木永太, 水上拓郎, 百瀬暖佳, 蒲地一成, 山田弘, 石井健、瀧口功. ヒト化マウスを用いたインフルエンザワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法開発の試み. 第 9 回 次世代アジュバント研究会、大阪、2016 年 1 月

25) 前山順一, 山崎利雄, 山本十糸子, 林大介, 鈴木史子, 尾関百合子, 松本壮吉, 伊保澄子, 山本三郎, 組換え結核菌抗原 MDP1 および DNA アジュバント G9.1 からなる結核ブースターワクチン候補の最適化の試み、第 89 回日本細菌学会、大阪、2016 年 3 月