

感染症法改正による病原微生物等の規制の概要(案) ※:分類は改正後の案

〔公務上試験・研究以外の所持等の禁止〕 (A)	〔試験・研究等の目的の所持等の許可〕 (B)	〔所持等の届出〕 (C)	〔基準の遵守〕 (D)
<p>〈一類感染症〉</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○エボラウイルス(1)</li> <li>○クリミア・コンゴ出血熱ウイルス(1)</li> <li>○痘そうウイルス(1)</li> <li>○マールブルグウイルス(1)</li> <li>○ラッサウイルス(1)</li> <li>○南米出血熱ウイルス(1※)</li> </ul> <p>(以上 6)</p>	<p>〈一類感染症、二類感染症又は四類感染症〉</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ペスト菌(1)</li> <li>○SARSコロナウイルス(2※)</li> <li>○炭疽菌(4)</li> <li>○野兔病菌(4)</li> <li>○ボツリヌス菌(4)、ボツリヌス毒素(4)</li> </ul> <p>(以上 6)</p>	<p>〈二類感染症又は四類感染症〉</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○多剤耐性結核菌(2※)</li> <li>○Q熱コクシエラ(4)</li> <li>○コクシジオイデス真菌(4)</li> <li>○サル痘ウイルス(4)</li> <li>○腎症候性出血熱ウイルス(4)</li> <li>○ニパウイルス(4)</li> <li>○日本紅斑熱リケッチア(4)</li> <li>○ハンタウイルス肺症候群ウイルス(4)</li> <li>○Bウイルス(4)</li> <li>○ブルセラ属菌(4)</li> <li>○発しんチフスリケッチア(4)</li> <li>○鼻疽菌・類鼻疽菌(4※)</li> <li>○ベネズエラ馬脳炎ウイルス・東部馬脳炎ウイルス・西部馬脳炎ウイルス(4※)</li> <li>○ロッキー山紅斑熱リケッチア(4※)</li> <li>○ダニ媒介性脳炎ウイルス群(4※)</li> <li>○ヘンドラウイルス(4※)</li> <li>○リフトバレーウイルス(4※)</li> </ul> <p>(以上 20)</p> <p>○病原微生物等の種類、保管方法等について厚生労働大臣へ届出</p> <p>○輸送規制</p>	<p>〈二類感染症、三類感染症又は四類感染症〉</p> <p>ポリオウイルス(2)、結核菌(多剤耐性結核菌を除く。)(2※)、腸管出血性大腸菌(3)、コレラ菌(3※)、赤痢菌属(3※)、チフス菌(3※)、パラチフスA菌(3※)、E型肝炎ウイルス(4)、ウエストナイルウイルス(4)、A型肝炎ウイルス(4)、エキノコックス(4)、黄熱ウイルス(4)、オウム病クラミジア(4)、回帰熱ボレリア(4)、狂犬病ウイルス(4)、鳥インフルエンザウイルス(4)、オリエンチアツツガムシ(4)、デングウイルス(4)、日本脳炎ウイルス(4)、マラリア原虫(4)、ライム病ボレリア(4)、リッサウイルス(4)、レジオネラ属菌(4)、レプトスピラ菌(4)、ジフテリア菌(2)</p> <p>(以上 25)</p>

27

+

+

+

〈 共通の規制 〉

- 使用、保管及び廃棄の基準(厚生労働省令)の遵守
- 厚生労働大臣による報告徴収、立入検査
- 厚生労働大臣による勧告、改善命令
- 改善命令違反等に対する罰則

## 国立感染症研究所病原体等安全管理規程の構成

## 第1章 総則

- ・ 目的
- ・ 定義
- ・ 遵守義務

## 第2章 安全管理体制

- ・ 委員会の設置
- ・ バイオセーフティ委員会
- ・ 病原体等取扱安全監視委員会
- ・ バイオセーフティ管理室
- ・ 危害防止主任者

## 第3章 安全管理基準

- ・ 病原体等のレベル分類
- ・ 実験室の安全設備及び運営に関する基準等
- ・ 指定実験室の安全管理
- ・ 病原体等の取扱手続き及び分与・移動
- ・ 病原体等の移動の制限等
- ・ 指定実験室及びBSL2実験室の表示
- ・ 病原体等を取り扱う職員等
- ・ 取り扱い病原体等の処置
- ・ 事故
- ・ 緊急時対策
- ・ 緊急対策本部
- ・ バイオセーフティ講習会
- ・ 安全点検結果等の公開

## 第4章 健康管理

- ・ 定期の健康診断
- ・ 臨時の健康診断
- ・ 健康診断の記録
- ・ 健康診断後の措置
- ・ 血清の保存
- ・ 病気等の届出等

## 第5章 雑則

- ・ 安全管理カード

## 第6章 罰則

## 附則

## 附帯決議

○「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律及び検疫法の一部を改正する法律案」に対する附帯決議

〔平成十五年十月三日〕  
〔衆議院厚生労働委員会〕

政府は、次の事項について適切な措置を講ずるべきである。

- 一 SARSに係る感染症法上の類型については、ウイルスの解明、SARSの病態・感染経路の解明を急ぎ、治療薬・ワクチンの開発などの医療の状況も含め医学的知見の集積等を踏まえ、一年毎の見直しを行うこと。
- 二 検疫法第十八条第二項に規定する入国者に係る入国後の健康状態の報告義務については、SARSの疑いがある患者がいる医療機関で働いていた者や患者の家族等、濃厚接触のあった者等に限定するなど、科学的根拠に基づいた運用を図ること。また、これらの者に係る個人情報の保護については万全を期すこと。
- 三 検疫については、国内の対策と密接な連携を取りつつ的確な運用に努めるとともに、感染症の発生状況に応じた機動的な対応が可能となるよう人員の配置等体

制の強化に努めること。

- 四 保健所については、緊急時において、国、地方公共団体の関係行政機関と緊密な連携を図りつつ、住民に対して必要な情報の提供に努めるとともに、地域における感染症対策の中核機関として、その機能が十分果たせるよう機能強化を図るため必要な措置を講じること。

- 五 感染症患者や家族に対する差別や偏見が生じないよう、関係省庁間の連携を取りつつ、職場、地域、学校等への啓発を徹底すること。

○「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律及び検疫法の一部を改正する法律案」に対する附帯決議

〔平成十五年十月九日〕  
〔参議院厚生労働委員会〕

政府は、次の事項について適切な措置を講ずるべきである。

一 SARSについては、ウイルス、病態及び感染経路の解明並びに治療法、治療薬及びワクチンの開発を急ぐとともに、これらの医学的知見の集積等を踏まえ、その感染症法上の類型について、二年ごとの見直しを行うこと。

二 検疫法第十八条第二項に規定する入国者に係る入国後の健康状態の報告義務については、SARSの疑いがある患者がいる医療機関で働いていた者や患者の家族等、濃厚接触のあった者等に限定するなど、科学的根拠に基づいた運用を図ること。また、これらの者に係る個人情報保護については万全を期すこと。

三 検疫については、国内の感染症対策と密接な連携を取りつつ的確な運用に努めるとともに、感染症の発生

状況に応じて機動的かつ柔軟に対応できるよう人員を配置する等体制の強化に努めること。

四 保健所については、地域における感染症対策の中核機関として、国、地方公共団体の関係機関と緊密な連携を図りつつ、住民に対する必要な情報の提供等、その役割が十分果たせるよう体制の強化を図ること。

五 感染症に係る施策の実施に当たっては、感染症患者やその家族に対する差別や偏見が生じないように、関係機関との連携を取りつつ、職場、地域、学校等への啓発を徹底すること。

六 SARSに感染した疑いのある者に係る外来診療については、対応可能な体制を備えた拠点医療機関（協力医療機関）を定める等により、地域における医療提供体制に混乱が生じないよう必要な措置を早急に講ずるよう努めること。

七 生物テロへの対応については、引き続き、必要となる治療薬及びワクチンの確保に努めるとともに、医師、看護師、保健師等に対する教育・研修の充実を図ること。

八 感染症を人に感染させるおそれのある動物等の輸入に係る届出制度については、できるだけ早期に実施できるよう準備を急ぐとともに、当該動物等の所有者、管理者に対しては、それらの管理を適切に行うことが

できるような必要な情報の提供等に努めること。

九 地球規模化する感染症問題については、海外の事例の収集、分析等を踏まえ、新感染症等への速やかな対応が可能となるよう人材の確保、研究機関の体制整備等を重点的かつ積極的に行うこと。また、海外における患者情報の把握及び発生源対策が重要であることにかんがみ、WHO及びASEAN並びに二国間協議等を通じた国際医療協力の一層の推進を図ること。

十 感染症の患者及び感染者に対し、その人権に配慮した良質かつ適切な医療が提供されるよう、医師、看護師、保健師等に対する教育・研修の充実、感染症専門医の育成等に努めるとともに、感染症指定医療機関について、その指定が促進されるよう必要な措置を講ずるよう努めること。

右決議する。

## SARSの発生状況について

- 平成15年7月5日、WHOが最後のSARS伝播確認地域である台湾の指定を解除し、SARSの終息を宣言。終息宣言までに感染者数8,098名、死者774名が発生。
- 終息宣言後、実験室内感染等により以下のとおり14名のSARS患者が報告されている。
  - (1)シンガポール研究生(平成15年9月9日)

シンガポール国立大学の微生物研究室で研究を行っている27歳のシンガポール人研究生(男性)が、実験室内でSARSコロナウイルスに感染し発病。
  - (2)台湾の研究者(平成15年12月17日)

台北の國防大学予防医学研究所で研究を行っている44歳の台湾の研究者(男性)が、実験室内でSARSコロナウイルスに感染し発病。
  - (3)広東省のテレビ・プロデューサー(平成16年1月5日)

中国広東省広東市の32歳テレビ・プロデューサーが、SARSコロナウイルスに感染し発病。感染源は現在までのところ不明。
  - (4)広東省の女性(平成16年1月17日)

広東省で野生動物を扱う飲食店に勤務する20歳代女性がSARSに感染し発病。感染源は確定されていないが、勤務する飲食店にあるハクビシンの檻からSARSコロナウイルスが検出されたとの報道がある。
  - (5)広東省の男性(平成16年1月31日)

広東省で40歳の開業内科医の男性が、SARSコロナウイルスに感染し発病。感染源は現在までのところ不明。接触者に、異状は認められていない。
  - (6)北京市・安徽省の事例9名(平成16年4月23日～5月18日)

4月23日に中国の国立ウイルス学研究所で研修を受けた大学院生(26歳・女性)がSARS確定例であることが中国政府により発表された。その後、同研究所の研究者(31歳・男性)や、大学院生との接触者等、計8名のSARS確定例が確認されたが、接触者の健康監視等により発生が終息し、5月18日にWHOの終息宣言に至った。
- 日本では、15年6月20日までに52件の疑い例と16件の可能性例が報告されたが、専門家の症例検討の結果、すべて否定されている。

## SARSに関する研究の概要

## 1. SARSコロナウイルスに対するワクチン開発に関する研究

- (1) 研究年度 平成 16 年度
- (2) 主任研究者(所属機関)  
田口 文広(国立感染症研究所ウイルス第3部)
- (3) 分担研究者(所属機関)  
横田恭子(国立感染症研究所免疫部)、岡田全司(国立療養所近畿中央病院臨床研究センター)、石井孝司(国立感染症研究所ウイルス第2部)、黒澤良和(藤田保健衛生大学総合医科学研究所)、山本典生(東京医科歯科大学)、山田靖子(国立感染症研究所動物管理室)、宝達 勉(北里大学獣医畜産学部)、池田秀利(動物衛生研究所感染症研究部)
- (4) 概要
  - ①研究目的：重症急性呼吸器症候群（SARS）は、コロナウイルス（SARS-CoV）による致死率の極めて高い新興感染症であり、予防治療法は未だ確立されていない。本研究の目的は、SARS の病態を把握し、SARS に対する有効で安全なワクチン及び抗ウイルス剤の開発のための基礎的研究である。
  - ②研究方法：ウイルスは SARS-CoV（HKU39849 と Frankfurt-1 株）猫伝染性腹膜炎ウイルス（FIPV）を用いた。SARS-CoV の増殖、力価測定は VeroE6 細胞で行った。SARS-CoV 遺伝子をクローニングし、大腸菌、哺乳動物培養細胞で発現するため各々のベクターに挿入した。また、SARS-CoV 遺伝子を含む組み換えワクシニアウイルス DIs を作成した。免疫には BALB/c, C57Bl, SCID-PBL/hu マウスを用いた。SARS-CoV 受容体 ACE2 遺伝子分離にはフェレットを、FIPV 感染には SPF 猫を用いた。
  - ③結果と考察：SARS-CoV 増殖はプ鴻 e アーゼにより著しく亢進し、肺炎重症化でのプロテアーゼ関与が示唆された。マウスを用いた不活化ワクチン、DNA ワクチン、組み換えワクチン研究では、SARS-CoV に対する細胞性及び液性免疫が惹起され、マウス体内のウイルス増殖を抑える抵抗性を賦与できたワクチンもあった。抗ウイルス剤としては、2 種類の薬物が培養細胞レベルでの抗 SARS 活性を示した。また、フェレットが SARS 感受性 ACE2 を持つことが判明し、動物モデルとしての有用性が期待される。FIPV 感染における抗体依存性感染増強の発生機序で Fc 受容体の関与が明らかにされ、SARS の病態発生の基礎的研究に貢献した。本年度は、SARS ワクチン開発に向けて期待できる結果が得られた。今後は、ワクチン開発と共に動物モデルを用いたワクチン、抗ウイルス剤の有効性、安全性の評価システムの確立を目指したい。

④結 論： 本研究では SARS の重症化にプロテアーゼが関与すること，マウスを用いた不活化ワクチン、DNA ワクチン、組み換えワクチンが液性、細胞性免疫を誘導することが明らかにされた。また、抗ウイルス剤としても 2 薬物が発見された。フェレットが動物モデルになる可能性が示唆され、FIPV の抗体依存性感染増強への Fc 受容体の関与が示された。これらの成果をもとに、動物でのワクチン評価システムの確立が期待される。



## 2. SARSウイルス感染阻止化合物の探索

(1) 研究年度 平成16年度

(2) 主任研究者(所属機関)

菅村 和夫(東北大学大学院医学系研究科)

(3) 分担研究者(所属機関)

石坂 幸人(国立国際医療センター)、服部 俊夫(東北大学大学院医学系研究科)

(4) 概要

- ①研究目的：Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)「重症急性呼吸器症候群」の複製様式を研究し、特異的阻害剤を発見する。我々が細胞内シグナル伝達分子として同定したSTAM, HrsはESCRT-0に分類され種々の蛋白の輸送制御に関わる。そこで本研究においてはこれらの小胞輸送系蛋白に焦点をあてることにより、SARSウイルスの細胞内吸着から細胞内侵入に至る過程およびウイルス成熟と出芽の詳細を明らかにする。これらのウイルスのライフサイクルを阻害する生理活性物質の検討を行う。このためには多くの阻害薬を高効率にスクリーニングすることが必要であるため、あらたな*in vitro*実験系を構築し、海洋生物、漢方由来エキスを網羅的に探索することによりSARSウイルスの発症コントロールを視野に入れた包括的生理活性物質探索を行う。
- ②研究方法：STAM1/SATM2ダブルノックアウト細胞株(SSd) Hrsノックアウト細胞株(HRSd)を作成し、これらのこの細胞株をレトロウイルスベクターを用いてHRSを戻した細胞株(HRSdRe)を樹立し、遺伝子および蛋白の発現の確認を行った。そこにポリオウイルス、サイトメガロウイルスを感染させた。ヒト型に改変されたS蛋白質と受容体であるACE-2をそれぞれ発現させた。その結合を種々の条件で検討する。またS蛋白質を表面に持つ、偽ウイルスを作成し、適当な標的細胞を見だし、多検体をスクリーニングできる系を開発する。SARSウイルス侵入阻害物質を発見する。
- ③結果と考察：様々な条件で比較して3種類のプラスミッドを293T細胞に導入して得て作成した偽ウイルスが最も安定性が高いことが明らかになった。これらの偽ウイルスを用いて、ヒト肝臓由来細胞株であるHepG2への感染効率が高いことが明らかになり、96穴のプレートによりルシフェラーゼ活性を測定できることが明らかになった。
- ④結論：小胞輸送関連物質のSARS複製に及ぼす役割が明らかになってきた。また新たな感染抑制物質を発見するためのスクリーニング系が開発された。

### 3. SARSコロナウイルス検査法の精度向上及び迅速化に関する研究

(1) 研究年度 平成 16 年度

(2) 主任研究者(所属機関)

森川 茂(国立感染症研究所ウイルス第一部)

(3) 分担研究者(所属機関)

北村 義浩(東京大学医科学研究所)、森田 公一(長崎大学熱帯医学研究所)、松浦 善治(大阪大学微生物病研究所)、奥野 良信(大阪府立公衆衛生研究所感染症部)、田代 真人(国立感染症研究所ウイルス第三部)、棚林 清(国立感染症研究所獣医科学部)、長谷川 秀樹(国立感染症研究所感染病理部)、納富 継宣(栄研化学株式会社生物化学研究所)

(4) 概要

- ①研究目的：SARS は 1 類感染症に指定されている。実験室感染を回避できるウイルス培養を必要としない血清診断系の開発を行う。他の呼吸器感染症との鑑別診断も行う。初年度は、組換え抗原による抗体検出法の開発、SARS-CoV を用いない安全なウイルス中和抗体測定法の開発、LAMP 法による SARS-CoV 検出の至適化と改善、サルへの SARS-CoV 感染系の解析、ACE2-トランスジェニックマウスの作製を行う。
- ②研究方法：1) 血清診断法：組換え N 蛋白を用いた ELISA 法を作製した。また、S 蛋白を被った VSV-シュードタイプ、ACE2 を被ったシュードタイプバキュロウイルスを作製し、中和抗体測定法を開発した。イムノクロマト法を開発するために抗体を作製した。2) 遺伝子検出法：LAMP 法の有用性を検討した。また、感度向上のための基礎検討を行った。鑑別診断用 LAMP 法の基礎検討を行った。3) モデル動物系：SARS-CoV 感染サルにおけるウイルスの動態と免疫応答を解析した。また、ヒト ACE2 発現トランスジェニックマウスの作出を試みた。
- ③結果と考察：1) 血清診断法：組換え N 蛋白を用いた血清診断系では、他のコロナウイルスとホモロジーの高い領域を除くことで特異性が高められた。VSV-シュードタイプを用いて中和抗体測定が 10 時間で可能になった。ACE2 を被ったシュードタイプバキュロウイルスも作製できた。迅速なイムノクロマト法に用いる構造蛋白のペプチド抗体を作製した。2) 遺伝子検出法：LAMP 法は RT-PCR より迅速で高感度であった。また、RNA 抽出法等の改良により感度が向上できた。迅速鑑別用 LAMP 法の基礎データを得た。3) モデル動物系：SARS-CoV 感染サルでは、咽頭・直腸拭液からウイルス遺伝子が検出され、感染 10 日目以降に抗体が検出された。トランスジェニックマウス 3 系統で ACE2 発現を確認した。これらは、より迅速で安全な実験室診断の確立につながるものである。
- ④結論：SARS-CoV の培養系を使用しない血清診断系により、実験室感染のリスクを回避でき、迅速に抗体測定が可能である。LAMP 法は極めて高感度であるが、検出感度の向上によりさらに確実な診断が可能となる。感染サル材料を用いて、今後開発、改良された検査法の精度、感度検定が可能である。トランスジェニックマウスは、より有効なモデル動物系の開発につながると思われる。

#### 4. ペプチド抗体によるSARS(重症急性呼吸器症候群)診断の迅速化

(1) 研究年度 平成16年度

(2) 主任研究者(所属機関)

伊東 恭悟(久留米大学(医学部))

(3) 分担研究者(所属機関)

笹月 健彦(国立国際医療センター)、七條 茂樹(久留米大学(医学部))、切替 照雄(国立国際医療センター研究所)

(4) 概要

- ①研究目的: 患者特異的に長期間免疫応答が持続する抗体により認識されるSARSウイルスの構造蛋白エピトープを同定し、これを用いた迅速診断法を確立する。なお、本研究はベトナム保健省の倫理委員会及び国立国際医療センター倫理委員会の承認の基に実施した。
- ②研究方法: 台湾人SARS感染初期血清、ベトナム健常人、同接触非感染者および同SARS感染後6ヶ月患者血清を用いた。ペプチド:SARS-CoV構成タンパク(spike(S), nucleocapsid(N), membrane(M), and envelop(E))由来の15merペプチドをそれぞれ125、43、22、7種類(合計197種類)合成した。抗体測定法: 抗体は、Luminexを用いたflowmetryで行った。実験操作は国際医療センター高度安全管理室内で行った。
- ③結果と考察: SARS急性期感染患者血清で197種類のうち42種類のペプチドが陽性であった。なかでもS791およびN161が最も高い測定値を示した。42種類のペプチドのうち感染6ヶ月後患者血清で有意に認識される3種類(S791, M207, N161)のペプチドを同定した。本研究では微量の血清量で抗体の測定が可能で、最大100種類の抗原に対する抗体が同時に測定できる、Luminexを用いたflowmetry法を選択した。Nucleocapsid(N)に対する抗体は、急性期で最も高くその後次第に減少するという報告がある。一方、本研究で同定された3種類のペプチドに対する抗体は、6ヵ月後でS791, M207, およびN161に対してそれぞれ51%、60%および42%といずれも高い陽性率を示していることからペプチドに対する抗体測定の有用性が示唆された。しかしながら抗体の検出がSARS感染を診断する上でどのような意味を持つのか今後慎重に解析し検討する必要がある。
- ④結論: 各種SARSウイルス由来エピトープに対する免疫応答が、個々の患者により異なったり、感染後の経時的な応答が異なったりすることから、各エピトープに対する抗体を測定することが患者の予後との関連などを解析する上で重要な情報を与えるものと考えられた。また、本研究で同定した長期持続免疫抗体が認識するエピトープは、感染直後から惹起されることから、診断のための抗原としても有用であると考えられた。

## 5. ヒト型抗SARS中和抗体の開発研究

(1) 研究年度 平成16年度

(2) 主任研究者(所属機関)

切替 照雄(国立国際医療センター研究所 感染・熱帯病研究部)

(3) 分担研究者(所属機関)

笹月 健彦(国立国際医療センター)、田代 真人(国立感染症研究所 ウイルス第3部)、七條 茂樹(久留米大学医学部 免疫学教室)、石田 功(キリンビール株式会社医薬カンパニー医薬フロンティア研究所)

(4) 概要

- ①研究目的：本研究では、SARS ウイルス感染予防、感染後の発症予防、発症後の重症化予防と治療法確立を目的とし、ヒト型ウシを用いたヒト型中和抗体の開発を目指す。SARS 患者血清と反応する多数の SARS ウイルス抗原エピトープを同定し、これらエピトープを含むオリゴペプチドをヒト型マウス及びウシに免疫し、大量のヒト型中和抗体を作成し実用化を目指す。
- ②研究方法：抗原ペプチドの候補選定：SARS ウイルス構成タンパク由来の 15mer ペプチドを合計 197 種類合成し、color-coded beads に共有結合させ、これらペプチドに対する抗体は、Luminex を用いた flowmetry で行った。抗原ペプチドのデザイン：SARS 患者に特異的なペプチドの配列を元にペプチドを合成した。組換え蛋白質の調整：His-Tag が除去可能な設計とするため、前者では TEV プロテアーゼというエンドプロテアーゼの認識部位を His-Tag 直下に導入した。大腸菌での大量発現の確認後、ニッケルキレートカラム、His-Tag 除去、TEV プロテアーゼにより精製した。抗体中和活性試験の確立：Vero E6 細胞系をヒト型抗体の中和試験に対して最適化を行なった。
- ③結果と考察：抗原ペプチドの候補選定：SARS-CoV 由来 S、M 及び N 蛋白質の 3 つの蛋白質情報から 197 種類の重なり合うように設計されたペプチドを合成し、感染後の SARS 患者 44 名から採取した血清中の IgG との反応性を検証して、抗原ペプチド候補を絞りこんだ。抗原ペプチドの設計：SARS 患者に特異的な 3 つのペプチドの配列を元にペプチドを合成した。これらの配列に MAP 修飾したもの、インフルエンザ血球凝集素ペプチドまたはユビキチン卵白アルブミンペプチドとこれらの配列を融合させたものの、総計 4 種類のデザインを行った。組換え蛋白質の調整：SARS-CoV 由来蛋白質のうち抗原候補として、S、M 及び N 蛋白質の組換え蛋白質、抗原を調整した。抗体中和活性試験の確立：Vero E6 細胞の細胞変性を指標としたヒト型抗体の中和試験を確立してプロトコールを作成した。
- ④結論：SARS ウイルスの感染防御、感染後の SARS 発症予防、さらに SARS 発症後の重症化予防と治療を目指した。本年度は、抗原ペプチドの候補選定、抗原ペプチドのデザイン、組換え蛋白質の調整、抗体中和活性試験の確立の 3 項目を実施し、大きな進展があった。

## 6. SARSの感染・発症・重症化の分子機構

(1) 研究年度 平成 16 年度

(2) 主任研究者(所属機関)

笹月 健彦(国立国際医療センター)

(3) 分担研究者(所属機関)

徳永 勝士(東京大学)、慶長直人(国立国際医療センター)

(4) 概要

- ①研究目的：SARS の感染・発症・重症化には宿主側の要因が深く関与するものと考えられているが、その機構についてはほとんど解明されていない。候補となる遺伝子の変異検索と関連解析、関連分子の機能解析により、SARS の病態解明をめざす。
- ②研究方法：2003 年、ベトナムにおいて SARS と診断された 62 例のうち、書面による同意を得られた 44 例、SARS 患者との接触があったが SARS を発症しなかった病院スタッフ 103 例、別の病院のスタッフ 50 例を解析した。血球からゲノム DNA を抽出した。遺伝子多型タイピングは、RFLP 法、SSCP 法、直接シーケンス法を併用した。
- ③結果と考察：アンジオテンシン変換酵素 (ACE1) の挿入欠失多型と SARS 重症化との関連性を検討したところ、非低酸素血症群と比較して肺傷害に伴う低酸素血症群では、欠失アリの頻度が有意に高かった。ロジスティック解析の結果、独立因子として、ACE1 欠失変異の関与が推定された。血管内皮に発現する ACE1 によって生成されるアンジオテンシン II は血管内皮の傷害と関連して、肺の重症化に関与している可能性が考えられる。次に、SARS ウイルスの宿主側レセプターである ACE2 遺伝子には、新たなバリエーションが同定された。しかしその遺伝子変異と SARS 発症との関連は否定的であった。インターフェロン誘導抗ウイルス遺伝子群を候補として、OAS-1 遺伝子の、複数の SNPs が、SARS の発症ないし感染と有意な関連を示した。さらに、MxA 遺伝子プロモーター領域の SNP は SARS 患者の低酸素状態の有無と関連を示した。OAS-1 と MxA はそれぞれ SARS における疾患感受性と重症化に影響を与えているものと推測された。さらに、ウイルスに対する免疫応答の検討に用いられる dsRNA 刺激により、活性化マクロファージが、NKG2D リガンドの一つ RAE-1 を発現することが明らかとなった。
- ④結論：我々は、ベトナムとの国際共同研究によって、SARS の感染・発症・重症化に関連する遺伝子多型を明らかにした。さらに SARS レセプター ACE2 の新たなエクソンと新たな SNPs の発見は、今後、重要な情報を提供するものと考えられる。SARS と非 HLA 遺伝子との関連を検討し有意な結果を得たのは、本研究が世界で初めてであり、その結果は、すでに 3 報の論文として、国際誌に報告した。

## 重症急性呼吸器症候群ウイルスの空気感染を示す証拠

Evidence of Airborne Transmission of the Severe Acute Respiratory Syndrome Virus

I.T.S. Yu and others

N Engl J Med 2004; 350 : 1731 - 9 : Original Article

背景	重症急性呼吸器症候群(SARS)ウイルスの感染様式は明らかにされていない。香港の地域社会で起きた SARS の大規模集団発生における症例の時間的・空間的分布を解析し、これらのデータと、気流動態に関する研究を用いてモデル化した。ウイルス含有エアロゾル噴流の三次元的広がりとの相関を検討した。
方法	2003 年のアモイガーデン団地における流行初期の SARS 患者 187 例の分布を、発症日と住居の場所に従って確定した。次に、ロジスティック回帰分析を用いて、場所(棟, 階, 部屋の向いている方向)と感染確率との関連を検討した。発端患者から発生した空気中のウイルス含有エアロゾルの広がり、計算流体力学および多区域モデリングを用いて実施した研究などの、気流動態に関する研究を用いてモデル化した。
結果	流行曲線から、集団発生の共通感染源が示唆された。患者 5 例を除く全例が 7 つの棟(A~G 棟)に住んでおり、発端患者およびその他の SARS 患者のうち半数を超える患者(99 例)が E 棟に住んでいた。E 棟の中高層階の居住者は、低層階の居住者よりも有意にリスクが高かった。この知見は、中層階の部屋から発生する、通気孔内での汚染された温風の上昇噴流と合致している。別の棟のリスクは、多区域モデリングを用いて予測されたウイルス濃度と適合していた。B, C, D 棟でのリスク分布は、計算流体力学を用いて予測されたウイルス含有エアロゾルの三次元的広がりによく一致していた。
結論	ウイルスの空気感染によって、地域社会で起きた SARS のこの大規模集団発生に説明が付くと考えられる。予防と管理に関する今後の取り組みには、SARS ウイルスの空気感染の可能性を考慮に入れなければならない。

(C)2004 Massachusetts Medical Society.

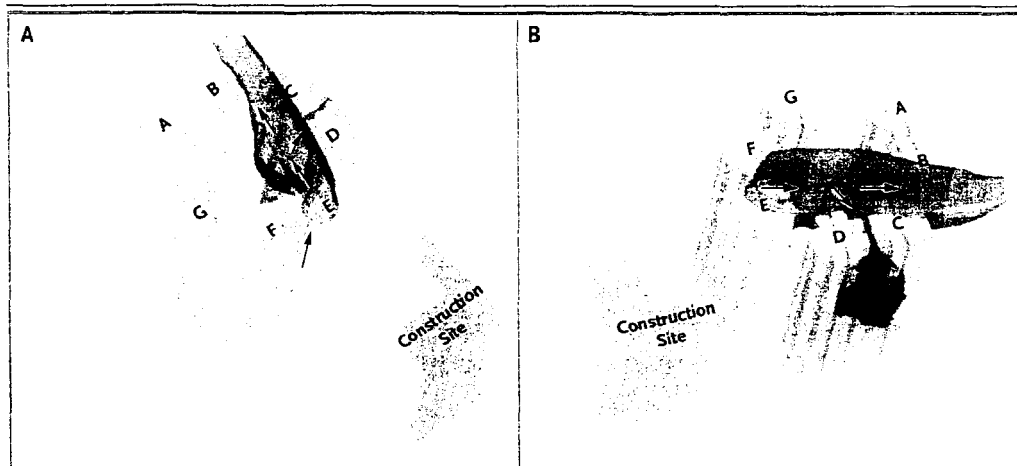


Figure 3. Model of the Movement of the Virus-Laden Plume.

According to our computational fluid-dynamics modeling, the buoyant plume (blue) rose from the air shaft between two housing units in building E (yellow) and was carried by a northeasterly wind toward the middle-level floors in buildings C and D. The L-shape structure (Panels A and B) was a nearby construction site that blocked the wind flowing toward lower-level floors in buildings E, C, and D. The wake flow of the construction site created a region of negative air pressure in the space between buildings E, C, and D (Panel B) that caused the plume to bend downward, toward buildings C and D.

図3 ウイルス含有噴流の動きのモデル

気流動態モデルによると、E棟の2つの居住単位の間を通気孔から発生する浮遊噴流は、北東風によって、C棟およびD棟の低中層階に向けて運ばれた。工事中のL字型の建物(パネルAおよびB)は、C、D、E棟の低層階への風の流れを妨げ、その後流は、C、D、E棟の間の空間に陰圧空間をもたらし、噴流を下方へ、すなわちC棟およびD棟へと導いた。

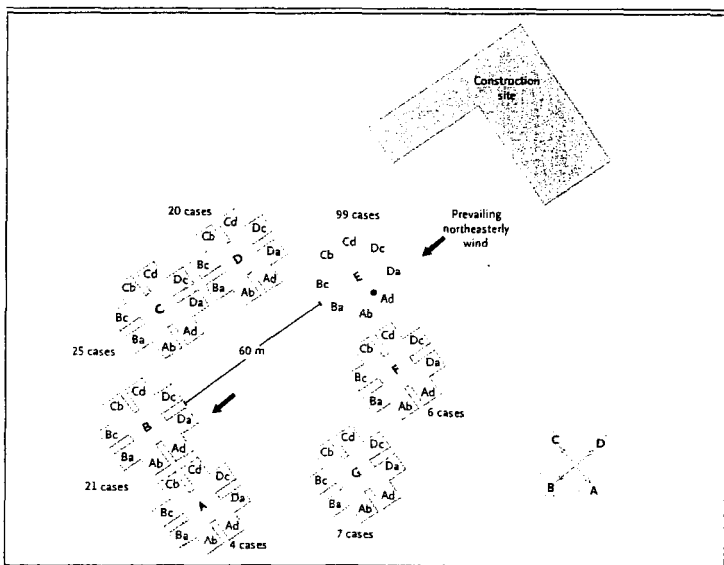


Figure 1. Distribution of Cases of SARS Infection in Buildings A to G in the Amoy Gardens Housing Estate.

The prevailing wind (red arrows) during the period of possible exposure was northeasterly, or roughly perpendicular to the exterior walls of apartment units Dc and Da in building E. The distance between buildings E and B is 60 m. The direction from which the wind blew shifted from nearly north to east and even southeast. The red dot in building E indicates the unit that the index patient visited. The directional indicator for the units at the lower right-hand corner indicates the direction each unit faced. In the directional code (Ab, Ad, Ba, Bc, Cb, Cd, Da, Dc) used to designate an apartment unit, uppercase letters denote front-facing windows and lowercase letters side-facing windows.

図1 アモイガーデン A-G 棟におけるSARS患者の分布

Table 1. Location as a Risk Factor for Infection with the SARS Virus among Residents of Housing Units in Amoy Gardens.

Location	Building E		Buildings B, C, and D	
	Risk* no./total no.	Odds Ratio (95% CI)†	Risk* no./total no.	Odds Ratio (95% CI)†
Floor‡				
Lower	12/320	1.00	11/960	1.00
Middle	46/320	5.15 (2.58–10.29)§	30/960	2.80 (1.39–5.62)¶
Upper	41/416	3.12 (1.57–6.22)¶	25/1248	1.77 (0.86–3.61)
Direction				
Cb	5/132	1.00	2/396	1.00
Ab	45/132	14.49 (5.46–38.44)§	8/396	4.07 (0.86–19.30)
Ad	17/132	3.86 (1.37–10.88)**	11/396	5.65 (1.24–25.66)**
Ba	8/132	1.65 (0.52–5.22)	12/396	6.18 (1.37–27.81)**
Bc	9/132	1.88 (0.61–5.79)	5/396	2.52 (0.49–13.08)
Cd	9/132	1.88 (0.61–5.79)	5/396	2.52 (0.49–13.08)
Da	4/132	0.79 (0.21–3.04)	15/396	7.79 (1.77–34.33)**
Dc	2/132	0.39 (0.07–2.05)	8/396	4.07 (0.86–19.30)

\* Risk was calculated as the number of cases divided by the assumed number of residents.

† The odds ratios for the risk of infection with the SARS virus at different floor levels compare middle and upper levels with lower levels (the reference category). The odds ratios for the risk of infection with windows facing various directions are compared with units facing direction Cb (the reference category). CI denotes confidence interval.

‡ Floors were categorized according to level as lower (floors 4 to 13), middle (floors 14 to 23), and upper (floors 24 to 36).

§ P<0.001.

¶ P<0.01.

|| Directions were coded on the basis of the directions each unit faced. Uppercase letters denote front-facing windows and lowercase letters side-facing windows.

\*\*P<0.05.

(参考) N Engl J Med 2004; 350 : 1710 - 2 : Perspective

伝染性感染症の空気感染 — つかみどころのない経路 —  
C.J. Roy and D.K. Milton

アモイガーデンにおけるSARSの集団発生事例の分析によって、少なくともSARSは、一定の条件下で空気感染する疾患であることが示唆される。しかし、ウイルス含有エアロゾルは発端患者により汚染された下水から発生したとされることや、各階の排水溝を介し拡散し、瞬く間に集団発生という事態になったことを以て、空気感染が必ず集団発生を引き起こすということや、感染性の低いSARS患者は空気感染を起こさないということを結論づけることはできない。この集団発生事例は、高濃度の感染微粒子を有する感染源と、感染源から遠く離れた場所での感染事例が存在すれば、比較的簡単に空気感染が示唆されるものであるという事実を示すに過ぎず、これによってSARSの一般的な空気感染性を証明することや完全に否定することはできない。