

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業  
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

研究開発課題名：(日本語) 血液製剤のウイルス等安全確保のための評価技術開発に関する研究  
(英語) Studies on development of evaluation methods for the viral safety of blood products.

研究開発担当者 (日本語) 都築学園 日本薬科大学薬学部 客員教授 山口照英  
所属 役職 氏名：(英語) Teruhide Yamaguchi、Visiting Professor、Nihon Pharmaceutical University

実施期間：平成28年4月1日～平成29年3月31日

分担研究 (日本語) NAT試験の実施及び精度管理に関するウイルス学的解析  
開発課題名：(英語) Analysis of Characteristic factors in viruses for NAT implication and its quality control

研究開発分担者 (日本語) 学校法人 埼玉医科大学 医学部 准教授 岡田義昭  
所属 役職 氏名：(英語) Saitama Medical University, Faculty of Medicine, Associate Professor, Yoshiaki Okada

II. 成果の概要(総括研究報告)

平成26-28年度 血液製剤のウイルス等安全確保のための評価技術開発に関する研究

山口照英客員教授(日本薬科大学)は、内田恵理子室長(国立医薬品食品衛生研究所)らと共に、パルボウイルスに対する感受性のあるKu812細胞のインタフェロン $\beta$ のsiRNAを発現させたKu812細胞を分離した。パルボウイルスを感染させたところ、細胞の変性が認められ、従来のウイルスゲノムをPCRで検出する腫瘍より簡便に感染性を検出できることを明らかにした。

浜口功部長(国立感染症研究所)は、内田恵理子室長、岡田義昭准教授(埼玉医科大学)、日赤などの研究協力者と協働し、1999年に作製したHIV、HBV、HCV国内標準品の国際単位について定量的PCRによる再評価を実施し、より正確なIU単位を明らかにした。今後国内での必要とされるNATの検出感度についてはより正確な評価が可能となる。

岡田准教授は、デングウイルスの汎用性の高いNAT検出系の確立を目指して、4つのセロタイプのデ

ングウイルスが検出できるユニバーサルプライマーを考案した。それぞれのウイルスを用いてNATを実施し、感度評価を実施した。デジタルPCR及び定量PCRの結果からいずれのセロタイプも同等の感度で検出可能なことが明らかになった。

Infectivity of Parvovirus B19 (PV-B19) has been evaluated using Ku812 cells in which PV-B19 replicates the genome DNA and then the replication of PV-B19 can be detected by qPCR. We have established new cell clone from Ku812 cells, which cause cytopathic effect under the infection of PV-B19. This new cell line will be useful to evaluate the infectivity of PV-B19.

As Japanese standards for HIV, HCV and HBV NAT assay have been re-evaluated using qPCR method by multi-laboratories, the precise international units have been determined. The revised IU will provide useful information to review the detection limits for these viruses.

The detection method using universal primer for 4 serotypes of Dengue virus has been evaluated, resulting that the universal primer has a comparative sensitivity for all serotypes using qPCR and digital PCR.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2 件、国際誌 4 件)

英文業績

- 1) Yamaguchi,T., Uchida,E.: Oncolytic Virus: Regulatory Aspects from Quality Control to Clinical Studies. *Curr Cancer Drug Targets*. 2017 Feb 22. doi: 10.2174/1568009617666170222142650.
- 2) Kanayasu-Toyoda T, Tanaka T, Kikuchi,Y, Uchida,E, Matsuyama,A, Yamaguchi T.:Cell-surface MMP-9 protein is a novel functional marker to identify and separate pro-angiogenic cells from early endothelial progenitor cells derived from CD133+ cells. *Stem Cells*. 34, 1251-1262 (2016)
- 3) Medina,RJ, Barber,CH, Dignat-George,F, Melero-Martin,JM, Khosroterani,K, Ohneda,O, Randi,AM, ChanJKY, Iruela-Arispe,ML, Yamaguchi.T. Hinsbergh,VV, Yoder,MC, Stitt,A.: Endothelial Progenitor: A consensus statement on nomenclature. *Stem Cells Transl. Med* in press.
- 4) Kiyoko Nojima, Kazu Okumaa, Masaki Ochiai, Madoka Kuramitsu, Kenta Tezuka, Mieko Ishii, Sadao Ueda, Takashi Miyamoto, Koichiro Kamimura, Enki Koue, Sanae Uchida, Yoshiharu Watanabe,Yoshiaki Okada, Isao Hamaguchi :Establishment of a reference material for standardization of the anti-complementary activity test in intravenous immunoglobulin products used in Japan: A collaborative study. *Biologicals*, 2017,vol.46. 68-73.

和文業績

- 1) 山口照英、内田恵理子：遺伝子治療関連法規。(細胞治療認定管理師制度指定カリキュラム) PP. 28-38、(2016)
- 2) 内田恵理子、古田美玲、山口照英：再生医療・細胞治療製品のマイコプラズマ検査。(月刊バイオインダストリー2016年9月号)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 輸血用血液製剤の保存温度や白血球除去による Leishmania 原虫の不活化及び除去効果に関する研究、口頭、岡田義昭、小林清子、池淵研二、第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会、2016 /4、(京都市・国立京都国際会館)
2. 当院における不規則性抗体陽性患者への不規則カード発行と今後の課題、ポスター、玉栄建次、青

- 木麻衣子、鈴木雅之、内野富美子、山田攻、松本慎二、棚沢敬志、小林清子、池淵研二、斉藤妙子、岡田義昭、第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会、2016 /4、(京都市・国立京都国際会館)
3. Ko 解凍赤血球液輸血を経験した抗 Ku 保有症例、ポスター、山田攻、鈴木雅之、内野富美、小林清子、池淵研二、岡田義昭、第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会、2016 /4、(京都市・国立京都国際会館)
4. HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価のための国内共同研究、ポスター、水沢左衛子、落合雅樹、草川茂、内田理恵子、川村恵理子、岡田 義昭、山口照英、浜口功、第 64 回日本ウイルス学会総会、2016 /10、(札幌市、札幌コンベンションセンター)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金  
(医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業  
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名：(日本語) 血液製剤のウイルス等安全性確保のための評価技術開発に関する研究  
(英語) Study on testing and evaluation methods to ensure the viral Safety of blood products

補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 第一室長 内田 恵理子  
所属 役職 氏名：(英語) Eriko Uchida, Head of 1<sup>st</sup> section, Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences

実施期間：平成28年 4月 1日 ~ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) 血液製剤の NAT 試験の評価技術の開発と国際動向の研究  
分担課題名：(英語) Study on NAT assays for viral safety of blood products and their international trends

補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 第一室長 内田 恵理子  
所属 役職 氏名：(英語) Eriko Uchida, Head of 1<sup>st</sup> section, Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者：日本薬科大学・客員教授・山口 照英 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0件、国際誌 0件)  
該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. パルボウイルス B19 感染性の迅速測定系の開発, ポスター, 内田恵理子, 豊田淑江, 古田美玲, 山口照英, 日本薬学会第137年会, 2017/3/27, 国内.
2. HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価のための国内共同研究, 水澤左衛子, 落合雅樹, 草川茂, 内田恵理子, 古田美玲, 川村利江子, 岡田義昭, 山口照英, 浜口功, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし

(4) 特許出願  
該当なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金  
(医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業  
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名： (日本語) 血液製剤のウイルス等安全性確保のための評価技術開発に関する研究  
(英語) Development of evaluation method for viral safety regarding blood products

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長 浜口 功  
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Safety Research on  
Blood and Biological Products, Director, Isao Hamaguchi

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) NAT の国内標準品の再値付けのための国内共同研究  
分担課題名： (英語) Re-titration of national standards for NAT assay

補助事業分担者 (日本語) 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長 浜口 功  
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Safety Research on  
Blood and Biological Products, Director, Isao Hamaguchi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者： 日本薬科大学・客員教授・山口 照英 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 1件、国際誌 1件)

1. 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*, 56;3094-3100, 2016
2. 浜口功：輸血と感染症 (小児と感染症-この10年のアップデート)、小児科 57:666-670、

2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Multiplex RT-qPCRによるデングウイルス4血清型の高感度同時検出法の開発、手塚健太、倉光球、大隈和、野島清子、荒木久美子、篠原直也、松本千恵子、佐竹正博、浜口功、第64回日本輸血・細胞治療学会総会、京都、口頭、2016年4月、国内
2. HBV-DNA国内標準品の力価の再評価のための共同研究、水澤左衛子、山口照英、浜口功、第64回日本輸血・細胞治療学会総会（京都国際会議場）、口頭、2016年4月、国内。
3. HBV 検体パネルを用いた HBV DNA および HBs 抗原検出用体外診断薬の評価。加藤孝宣、山田典栄、百瀬暖佳、村山麻子、松岡佐保子、大隈和、豊田九朗、浜口功、脇田隆字。ポスター、日本ウイルス学会学術集会、2016/10/23-25、国内。
4. HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価のための国内共同研究、水澤左衛子、落合雅樹、草川茂、内田恵理子、古田美玲、川村利江子、岡田義昭、山口照英、浜口功、ポスター、第64回日本ウイルス学会学術集会、2016/10/23-25、国内
5. HCV RNA、および HCV コア抗原検出を目的とした体外診断用医薬品の性能評価、百瀬暖佳、加藤孝宣、松岡佐保子、大隈和、山田典栄、村山麻子、豊田九朗、脇田隆字、浜口功、ポスター、第64回日本ウイルス学会学術集会、2016/10/23、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし