

16. バイオセーフティ管理室

室長 棚林 清

概要

平成 25 年度で篠原克明及び山崎利雄主任研究官が退官し、26 年度からは主任研究官（再任用）として引き続きバイオセーフティ管理室に勤務することとなった。また、原田俊彦研究員が新規に採用された。

感染研全体の病原体等の安全な取り扱いに関する管理業務（BSL2 実験室安全キャビネット定期点検プログラム等の立案と実施、病原体等の取扱者の健康管理や血清保存等）、また、病原体等の取扱届・申請や受入・分与等に関わる業務、および共同利用施設である BSL3 実験室等の管理・運営を担っている。病原体等の安全管理に関わるバイオセーフティ・バイオセキュリティについての研究および教育・訓練・研修並びに情報収集・提供を行っている。

病原体等取扱者への教育訓練として、新規に取扱う者に対しては年間スケジュールに従い 2 ヶ月毎にバイオリスク管理講習会を実施した。講義に加えてグローブ・マスク等の个人防护具の着脱方法や手洗い方法についてのデモンストレーションと実技を実施した。また、感染症法における特定二種病原体等取扱者および家畜伝染病病原体取扱者を対象とした解説および病原体管理に関する講習会を実施した。新規の BSL3 実験室利用者への利用者講習を随時実施した。

戸山庁舎、村山庁舎高度封じ込め施設、6 号棟、9 号棟およびハンセン病研究センターBSL3 実験室、ABSL3 実験室の日常の維持管理に努めるとともに施設整備の年次総合点検を実施した。

バイオセーフティに関する研究業務としては、エビデンスに基づくバイオリスク管理の強化や国際標準化また、ヒヤリハット事例のデータベース構築に関する研究、バイオハザード対策用の防護服の防護性能に関する研究、バイオセキュリティに関する一括管理システムの研究、ウイルスを用いた薬剤不活性化効果に関する研究、抗酸菌に関する研究等を行った。

厚生労働省は、感染症発生動向調査事業等において、ゆうパックによる検体を送付の際の留意事項を結核感染症課長通知として発出し、基本的 3 重包装の運搬容器をさらにジュラルミン等の堅牢な金属容器に入れることお

よび都道府県の衛生主管部が認定する包装責任者を置き組織として安全対策を導入することとしている。厚生労働省は本通知の徹底と適切な梱包法の実習を行う研修会を前年度に続き衛生主管部関係者を対象として開催しており、本研修の企画並びに研修での実習指導を担当した。

感染研へゆうパックで送付される研究材料についても同等の対応をすることとしており、送付元の組織の包装責任者の確認をおこなった。さらに、所内においてもバイオリスク管理講習会や各種研修会において病原体等の梱包・輸送について説明をおこない徹底をはかった。

米国バイオセーフティ学会総会、アジア太平洋バイオセーフティ学会および日本バイオセーフティ学会等に参加し、研究成果を発表するとともにバイオリスク管理についての最新情報の収集を行った。

戸山庁舎、ハンセン病研究センターで開催されている安全連絡協議会に続き、今般のエボラ出血熱の発生に伴う疑い検体の検査等がなされている村山庁舎においても高度封じ込め施設を含めた運営等のために新たに村山庁舎施設運営連絡協議会が設立開催され、視察、見学会を含め協議会が開催された。

業績

調査・研究

I. バイオリスク管理に関する研究

1. エビデンスに基づくバイオリスク管理と国際標準化及び事故・ヒヤリハット事例の共有データベース構築

厚生労働科学研究（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業の研究）で、病原体輸送容器の滅菌操作による劣化の実証実験やヒヤリハット事例を活用した研修、国際的バイオリスク管理の標準化の検討、標準的実習室のデザインさらには結核検査におけるバイオリスク管理の現状調査や国内外のヒヤリハット事例の収集とこれの情報をα版共有データベースのプラットフォームへ掲載し掲載内容の検討を行った。

[御手洗聡（結核研）、藤本秀士（九州大学大学院）、重松美加（感染症疫学セ）、安藤秀二（ウイルス 1）、清水博之（ウイルス 2）、伊木繁雄、棚林清]

2. 高圧蒸気滅菌処理の条件と温度に関する検討

病原体の不活化の際汎用されるのが高圧蒸気滅菌器であるが、被滅菌物の状態によっては水蒸気が十分に行き渡らず、滅菌が不十分となる可能性が懸念される。特に、作業により最も汚染され易いグローブは裏返して外した状態のまま滅菌されるため、汚染部位まで到達する水蒸気量はさらに少なくなることが懸念される。このため、実験室用ガウン中にグローブを設置し、これを市販のオートクレーブバッグに詰め、(1)オートクレーブバッグの口を閉じた状態、(2)オートクレーブバッグの口を開けた状態、(3)オートクレーブバッグ内に水を入れ、口を開けた状態の3通りの方法で121~132℃、10~150分高圧蒸気滅菌処理を施した。この際、グローブ内に温度記録計、ケミカルインジケーター及びバイオリジカルインジケーターを設置し、温度分布及び滅菌状態について調査を行った。またオートクレーブバッグ内部で発生または外部から取り込まれた水蒸気量を重量にて求めた。これらのデータについての関連性をまとめ、(1)~(3)の各条件において効率よく確実に滅菌される方法について検討した。

[伊木繁雄、棚林清、重松美加(感染症疫学セ)]

3. 病原体輸送容器の消毒・滅菌処理後の強度に関する検討

国内で販売されている病原体輸送容器は再利用が担保されていないが、その根拠は明確ではない。再利用の場合、内装容器は安全性を図るため滅菌等の処理が必要と考えられる。これまで、被検体とした四種類の病原体輸送容器に対し汎用性の高い除染方法である紫外線照射、薬液処理(エタノール清拭や次亜塩素酸ナトリウム浸漬)または高圧蒸気滅菌処理を施したところ、国連基準に則った強度試験のうちの内圧試験において不合格となるものがあった。これらについて、気密性を保つためのパッキンのみを新品と交換したところ合格となったため、パッキンの劣化の有無に関する数値での評価を目的として、新品及び消毒・滅菌処理済みのパッキンについて強度及び柔軟性を比較した。

[伊木繁雄、棚林清、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス1)]

4. BSL3 実験室空調システムの検証

村山庁舎 BSL3 実験関連施設の空調制御システムや室圧安定性などについて総合的に継続観察中である。

[篠原克明]

5. バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する調査

バイオハザード対策専用防護服の防護性能や試験方法や国際規格などについて、継続的に国内外の情報収集(規格、文献、関連学会、施設訪問など)を行い、その結果を ISO 規格の審査や JIS 規格の制定に反映している。また、防護具関連学会などにて、防護服の性能評価や用途などについて講演などを行っている。

[篠原克明]

6. バイオセキュリティに関する一括管理システムの検討

病原体の登録、保管、輸送、廃棄における一括管理システムの構築と実践のために、一括管理システムの性能検証並びにフィールド試験を実施している。これまでに国内30箇所以上に一括管理システムの実用配備を行った。また、国内外の関連情報の収集を行い、その都度システムの改良に反映した。

[篠原克明]

7. 病原体の不活性化方等に関する研究

(1) Feline calicivirus (FCV)をモデルとした消毒剤抵抗性獲得に関する研究

エタノール及び一部の汎用酸化剤について、一定条件下処理後の残存感染粒子を回収し、当該薬剤に対する抵抗性株を獲得することに成功した。現在抵抗性獲得機構の解析を行うとともに、抵抗性株の消毒剤感受性スペクトルについても検討している。

[高木弘隆]

(2) FCV および MNV による新規 detergent モデリングに関する研究

基本骨格より主鎖・側鎖を変化させた detergent モデルを用いて、ヒトノロウイルス代替ウイルスとして FCV 数株と MNV に対する不活性化効果を検証し、detergent デザインへの応用を試みる。※花王株式会社との共同研究

[高木弘隆]

(3) 動物サポウイルスをモデルとした細胞増殖系に関する研究

培養可能なブタサポウイルス(米オハイオ大より分与)を使用して現在使用している LLC-PK1 細胞以外の増殖可能な細胞検索、および増殖条件を検討し、それらメカニズムの解析を行っている。

[高木弘隆、岡智一郎(ウイルス2)]

8. 国立感染症研究所におけるバイオリスク管理講習の評価

新規入所者対象に2カ月ごとに行われるバイオリスク管理講習会の評価書を作成し、受講者に対し単元別に講習会内容の評価を求めた。その結果をグラフ化して各講

師に配布し、今後の講義の仕方についての検討材料とした。研修業務 I. バイオリスク管理講習会の表 2 の内容で講義を行った。

[伊木繁雄、棚林 清、高木弘隆、山崎利雄、篠原克明]

II. 抗酸菌に関する研究

1. 結核ブースターワクチンの遅延型過敏反応 (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を始めた。まず DTH 測定までを 18 週から 6 週とし、これまでの MDP1 と G9.1 のモル比の約 1:3 と 15:1 を検討したところ、短期間でも DTH が観察された。またマウスを用いた場合、1:1 付近にピークがある傾向が認められた。抗体産生では、IgG 産生で G9.1 による抑制が、IgG2c では、DTH と似た傾向が認められた。

[山崎利雄、山本三郎；前山順一（血液・安全性研究部）、網康至（動物管理室）、伊保澄子（福井大）、松本壮吉（新潟大）]

2. 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

ブースターワクチンの効果検討の前提としてプライム免疫である BCG を免疫したモルモットに結核菌を感染させたときの免疫細胞動態を検討している。BCG ワクチン株を皮内投与し 8 週後に結核菌噴霧感染させた。感染 1、2、3、4 週後に血液および各臓器由来の細胞についてフローサイトメトリーにより検討した。その結果、肺の単核細胞において相違が見いだされ、2 つの細胞群より成ることがわかった。一方の細胞群で、非免疫群では CD8 を、BCG 免疫群では CD8 および MHC II を発現していた。この細胞群は、非免疫群では感染の経過に伴い抗原発現が変化するが、BCG 免疫群ではそれに伴う大きな変化は認められなかった。

[山崎利雄、山本十糸子、山本三郎；前山順一（血液・安全性研究部）、]

国際協力関係業務

1. ベトナム国高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクト

ベトナム国におけるバイオセーフティ並びに実験室診断能力強化と連携強化プロジェクト（第9年度）に短期専門家として参加し、ベトナム国の主要研究機関並びに主要地方検査機関のバイオセーフティ担当者に対してバイオセーフティマネジメントの教育、指導、並びに各

実験施設の性能検証と運転計画、メンテナンス計画の作成や技術指導を継続して行っている。本邦研修として、ベトナムのハノイ、ホーチミン、ニャチャンおよびタイグエンからの、バイオセーフティ、BSL-3 実験室維持管理や病原体研究に関わる研修生 4 名を受け入れた。

[篠原克明、伊木繁雄、山崎利雄、棚林清]

2. フィリピン国におけるバイオハザード対策施設に設置に関する調査

JICA 国際技術協力の一環として、フィリピン国立熱帯医学研究所における BSL-3 検査室整備（エボラ対策）に係わる調査に参加し、当該検査室の基本構成案などを作成した。

[篠原克明]

研修業務

I. バイオリスク管理講習会

1. 新規者を対象としたバイオリスク管理講習会

新規者を対象として 2 ヶ月に一度、計 6 回実施し 155 名の受講者があった(表 1)。脇田隆宇ウイルス第二部長（バイオリスク管理委員長）から、バイオリスク管理の考え方について講演した。管理室長は安全管理規程等の規則について、管理室研究官がバイオセーフティの実践についての講義を行った(表 2)。个人防护具 (PPEs) の脱着の仕方および手洗い方法についてデモンストレーションと実習を実施した。また、外国人を対象としたバイオリスク管理講習会は随時行い、13 回開催し 22 名の受講者があった(表 3)。

表 1 平成 26 年度新規対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数
4 月 8 日	50
6 月 3 日	30
8 月 5 日	17
10 月 7 日	22
12 月 2 日	12
12 月 16 日	1
2 月 3 日	23
計	155

表 2 バイオリスク管理講習会内容、講師

講演内容	講師
基本的なバイオリスクの考え方	脇田隆宇(ウイルス第二部)

病原体安全管理規程及び規則等、実験室安全管理の実際	棚林清
組換え DNA 実験のすすめ方の基本	俣野哲朗(エイズ研究センター)
リスク評価	篠原克明
バイオセーフティの実際(病原体等安全取扱の基本)	山崎利雄
PPE(デモンストレーション) 他	山崎、高木、伊木
バイオセーフティの実際(安全キャビネットの使い方)	伊木繁雄
バイオセーフティの実際(病原体等の輸送について)	伊木繁雄
バイオセーフティの実際(消毒・不活性化の実際)	高木弘隆

表 3 平成 26 年度 外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 14 日	1
5 月 14 日	1
5 月 28 日	1
5 月 29 日	1
8 月 19 日	4
9 月 17 日	1
9 月 30 日	1
10 月 6 日	1
10 月 17 日	1
12 月 3 日	3
12 月 9 日	2
1 月 14 日	2
3 月 3 日	3
計	22

2. 二種病原体等取扱者講習会

二種病原体等取扱者を対象として感染症法の解説および特定病原体等の取扱いに関わる講習並びに獣医科学部奥谷晶子主任研究官による炭疽菌についての講演を内容として実施した。

[棚林 清]

3. 特別管理区域講習会

戸山庁舎(6月19日)、村山庁舎(9月9日)およびハンセン病研究センター(11月26日)の保守・警備担当者を対象にして講習会を実施した。

[棚林清]

4. 家畜伝染病病原体取扱者講習会

家畜伝染病病原体取扱者を対象に家畜伝染病予防法及び病原体の所持規制等に関する講習会を3月13および24、25日に戸山・村山庁舎にて実施した。

[棚林 清]

II. 各種研修講義・実習

感染研が受け入れている研修生等に対し、バイオセーフティについての講義・実習を行った。

1. ポリオ国際研修(JICA Training Course)

WHO 作製の DVD を用いたバイオセーフティトレーニング、生物学用安全キャビネットの正しい使用方法及び病原体輸送についての実習指導を行った。

[伊木繁雄、清水博之(ウイルス 2)]

2. エイズ国際研修(JICA Training Course: Laboratory Techniques for Diagnosis and Monitoring of HIV Infection)

8カ国14名(ボツワナ、ケニア、ミャンマー、南アフリカ、スリランカ、タイ)の研修生に対し、バイオセーフティ・バイオセキュリティについての基本の講義及び生物学用安全キャビネットの適正な使用方法についての実習指導を行った。

[伊木繁雄、村上務(エイズ)、棚林 清]

III. 所外機関等の研修

1. 感染症発生動向調査においてゆうパックにより検体を送付するための都道府県衛生所管部を対象とした研修会(厚生労働省主催)において、病原体等の輸送時の梱包や表示等についての実技指導を行った(計2回)。

[伊木繁雄、棚林清、重松美加(感染症疫学セ)]

2. 特定病原体等の運搬に関する講習会(厚生労働省主催)において、病原体等の輸送時の梱包についての講義および緊急時対応の実習指導を行った。

[伊木繁雄、棚林 清]

安全管理、教育および情報提供等に関する業務

I. BSL3 実験室の管理・運営および利用状況

BSL3 の実験室の一元的な管理・運営を行った。戸山庁舎においては棚林清、山崎利雄、伊木繁雄、および藤、浅沼みゆき非常勤職員が担当した。村山庁舎においては篠原克明、高木弘隆および山口安子、野川加奈、非常勤職員が担当した。ハンセン病研究センターにおいては向井徹および原田幸衣、森本友子非常勤職員が担当した。

引き続き、各庁舎 BSL3 実験室の日常の管理・運営、実験室関連設備の点検、施設管理技術者との作業調整と監督、施設の定期総合点検の計画立案と実施および BSL3 実験室利用者に対する講習等の教育指導等を行った。

平成 26 年度 BSL3 実験室の利用登録者数と BSL3 実験室利用者講習会月別受講者数を表 1、表 2 に示した。

表 1 BSL3 実験室利用登録者数

	登録者数
戸山庁舎	70
村山庁舎	66
ハンセン病研究センター	24
計	160

表 2 BSL3 実験室利用者講習会月別受講者数

	戸山		村山		ハンセン	
	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数
4月	3	8	0	0	1	1
5月	0	0	1	1	0	0
6月	1	1	1	1	0	0
7月	1	1	0	0	1	1
8月	1	1	0	0	0	0
9月	0	0	1	2	0	0
10月	0	0	0	0	0	0
11月	0	0	0	0	0	0
12月	0	0	0	0	0	0
1月	0	0	0	0	0	0
2月	0	0	0	0	0	0
3月	1	1	0	0	0	0
計	7	12	3	4	2	2

II. バイオセーフティ教育と情報提供

バイオセーフティ教育の一環として、行政機関、大学、JICA 研修生、その他でバイオセーフティに関わる業務関係者等を対象とした講義を行った。

希少感染症診断技術研修会において、病原体輸送に関する講義を行った。新規採用者研修会、地方衛生研究所職員研修等で、バイオセーフティ関係講義を行なった。

外部機関から病原体等安全管理規程等の問い合わせ、分与依頼、病原体のバイオセーフティレベル分類や実験施設・設備、BSL2,BSL3 の管理運営法、病原体の消毒方法およびバイオリスク管理等についての問い合わせが

寄せられ、これらの問い合わせについて情報提供を行った。

厚生労働省、人事院、財務省、大学生、高校生、外国人などの施設見学者に対して説明およびバイオセーフティについての解説を行った。

[高木弘隆、篠原克明、山崎利雄、伊木繁雄、棚林清、重松美加 (感染症疫学セ)]

III. 研究所一般公開

研究所の一般公開(平成 26 年 10 月 4 日)が開催され、バイオセーフティラボ体験と手洗い実習の二つの企画を実施した。ラボ体験では、バイオセーフティについての説明、个人防护具の試着及び脱ぎ方の説明、実機を用いた安全キャビネットの機能説明、簡易グローブボックスでの模擬検査の体験、及びオートクレーブ、病原体輸送容器及び P4 実験室模型の展示などを行った。説明用ポスターを一新し、来場者が理解しやすいよう努めた。手洗い実習を行い、自分の手洗いが十分できているかどうかを来場者に確認していただいた。二つの企画とも多くの方に来場いただき、バイオセーフティの実際を体験していただくことができた。

[原田俊彦、伊木繁雄、高木弘隆、山崎俊彦、棚林清、広報委員会]

IV. 管理データベースシステムの改良とホームページ管理

BSL3、特定 BSL2 病原体等及び家畜伝染病病原体所持規制に係る対象病原体等とその取扱者、取扱実験室の相互関係を明示できるデータベースシステムの構築を行い、運営している。さらに各部で保有している病原体等の情報を関連付けることでより多角的に管理できるシステムへと発展させるための準備をすすめた。また、ホームページ管理では、各種情報のリニューアル、アップデートした内容をよりわかりやすく掲載する作業に着手した。

[中西三季、浅沼みゆき、原田俊彦、棚林清]

V. 包装責任者、病原体等輸送品のチェック業務

感染研へゆうパックを用いて発送される病原体等の発送元の梱包担当者へ遵守事項等の確認を依頼し、確認の済んだ者を感染研への梱包責任者とした。また、感染研から発送される病原体等の輸送品が、適切に梱包されているかチェックシート等を用いた確認業務を行った。

[高木弘隆、伊木繁雄、原田俊彦、山崎利雄、篠原克明、棚林 清]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Sharma N, Hotta A, Yamamoto Y, Uda A, Fujita O, Mizoguchi T, Shindo J, Park CH, Kudo N, Hatai H, Oyamada T, Yamada A, Morikawa S, Tanabayashi K. Serosurveillance for *Francisella tularensis* among wild animals in Japan using a newly developed competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 14:234-239, 2014

2. 和文発表

1) 篠原克明: バイオハザード対策用防護具の現状について. セーフティ・ダイジェスト. (Safety & Health Digest) 61(4), 16-18, 2015 社団法人 日本保安用品協会 (JSAA) .

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Iki, S., Shigematsu, M., and Tanabayashi, K. Validation experiment of daily autoclave sterilization practice. Asia-Pacific Biological Safety Association, 9th Annual Biological Safety Conference, November 3-6, 2014. Bangkok, Thailand.

2. 国内学会

- 1) 伊木繁雄: バイオリスク管理の考え方、第 81 回日本細菌学会北海道支部学術総会、2014 年 8 月、札幌
- 2) 嶋崎典子、篠原克明: 防護服素材の飛沫曝露に対する防護性能評価。第41回日本防菌防黴学会年次大会、2014年9月24-25日、東京。
- 3) 篠原克明: バイオハザード対策用防護具の現状について。第12回日本防護服研究会学術総会、2015年2月19日、東京。
- 4) 小川翔大、山本龍二、堀田康弘、花村菜月、筑比地慧、宮田江里香、高見篤郎、徳田美季、富田陽香、小川賢二、八木哲也、大原直也、藤原永年、前田伸司、山崎利雄、西森敬、後藤義孝、伊藤佐生智、小野寄菊夫、瀧井猛将: *Mycobacterium avium* の酸性環境下におけるアルギニンデイミナーゼ誘導機構の解析、第 84 回実験結核研究会総会、2014 年 5 月、岐阜市
- 5) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、山本三郎: Mycobacterial DNA-binding protein

- 1) および CpG-DNA である G9.1 を用いた結核ブースターワクチン候補の結核菌噴霧感染による評価、第 84 回実験結核研究会総会、2014 年 5 月、岐阜市
- 6) 山崎剛、相澤志保子、山本三郎、芳賀伸治、山崎利雄、本多三男: BCG-specific IFN- γ ; producing CD4+T cell plays an intrinsic role in the protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*、第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月、横浜市
- 7) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎: TLR 9 リガンドである G9.1 をアジュバントとして用いた結核ブースターワクチンの開発、第 18 回日本ワクチン学会学術集会、2014 年 12 月、福岡市
- 8) 本田尚子、佐藤法仁、阿戸学、松村隆之、山崎利雄、関塚剛史、黒田誠、中山真彰、小林和夫、大原直也: A single base insertion in 16S rRNA gene confers Streptomycin dependence in *Mycobacterium bovis* BCG、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月、岐阜市
- 9) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎: 結核菌組換えタンパク質 MDP1 および CpG-DNA である G9.1 を用いた結核ブースターワクチンの開発、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月、岐阜市
- 10) 堀田明豊、木村昌伸、坪田敏男、中村幸子、片山敦司、中下美子、猪島康雄、鈴木道雄、今岡浩一、棚林清、藤田修、山本美江、宇田晶彦、森川茂: 2007 年以前の国内野生動物における重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) に対する抗体調査、第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月、札幌市
- 11) 堀田明豊、棚林清、山田章雄、森川茂: 国内の医師および獣医師への One Health についての意識調査、第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月、札幌市
- 12) 棚林清: ベーシックレクチャー、臨床検体や病原体等の梱包と輸送について、第 26 回日本臨床微生物学会学術集会、2015 年 2 月、東京