

異種移植における感染症リスクの検査 —日本における現状と課題—

摂南大学農学部応用生物科学科動物機能科学研究室

井上 亮, 三浦 広卓

Ryo INOUE, Hiroto MIURA



井上 亮



三浦 広卓

1. はじめに

移植において、感染症リスクは懸念すべき要素の1つである。同種・異種にかかわらず、移植における感染症リスクは2つのカテゴリーに大別することができる。1つ目は移植片由来の感染症リスクであり、移植臓器や細胞に感染していた病原体が被移植者(レシピエント)にも感染することで起こる。2つ目は免疫抑制による感染症リスクであり、免疫抑制薬により異物への免疫反応が抑えられ、流行性や日和見の病原体に感染することで起こる。後者についてはその対策に同種・異種で大きな違いはないが、前者については同種と異種とでは事情が大きく異なる。

本稿では、異種移植における前者の感染症リスク、すなわち、異種動物からの移植片による感染症リスクについて概説し、その検査方法の開発状況や検査体制の課題について紹介する。

2. ブタの感染症

異種移植のドナーとなる動物種の第一候補はブタである。ブタがドナー候補となる理由は、遺伝的にヒトに近い、生産性が高いなどのドナーとしての適性があることで²⁾、これに「感染する病原体が少なく、滅多に感染症にならない」といったメリットも付加されれば、理想的なドナー動物となるわけだが、残念ながらそれほど都合の良い動物ではない。畜産業としての養豚は、感染症との戦いと言っても過言ではない。養豚で対策すべき病原体は多く、古くか

らみられる感染症で根絶されたものは少ないうえに、1990年代以降には新興感染症と呼ばれる新たな感染症が蔓延し始めている。新興感染症では、豚繁殖・呼吸障害症候群(PRRS)が有名であるが、強い感染力を持つ原因ウイルス(PRRSV)はインフルエンザウイルスと同じく遺伝子変異が早く、対策が取りづらいため、世界中の養豚関係者が頭を悩ませている。古くからの感染症の例としては、豚熱(旧:豚コレラ)が挙げられ、この感染症が2018年に26年ぶりに国内で発生したというニュースは記憶にも新しい。なお、国内の豚熱感染は、再発生から約5年が経過した現在でも終息していない。

ブタが感染し得る病原体の多さは、厚生労働省の指針³⁾の「移植に際して危険性が排除されるべきとされる病原体」のリスト(表1)からもよく分かる。ここには、ウイルス44種、細菌25種、真菌2種、原虫18種など、合計で89種の病原体が示されている。これら89種のなかには、単一の病原体としてではなく、複数の病原体からなるグループとして記載されているものもあるため、実際の病原体数はさらに多い。もちろん、国内では感染が確認されていないものや、過去には感染があったが国内では根絶された病原体も示されているが、列挙されているうちの約5割は国内でも感染リスクがある。

3. 異種移植において注意すべき病原体

前述した病原体は、ドナーとなるブタに感染し得るものであるが、このなかのどれが異種移植において注意すべき病原体なのであろうか。間違いなく脅威といえるのは、ブタからヒトに感染が成立し得る人獣共通感染症である。表1のウイルスでいえば、インフルエンザウイルス、狂犬病ウイルスなどであり、細菌や真菌は、マイコバクテリウム、マ

■ 著者連絡先

摂南大学農学部応用生物科学科動物機能科学研究室

(〒573-0101 大阪府枚方市長尾峠町45-1)

E-mail. ryo.inoue@setsunan.ac.jp

表1 移植に際して危険性が排除されるべきとされる病原体(厚生労働省の指針³⁾より作成)

ウイルス (44種)		細菌 (25種)		真菌 (2種)	
1	ブタパルボウイルス	26	カリシウイルス	1	エルシニア菌
2	オーエスキュー病ウイルス	27	ブタリンパ球性ヘルペスウイルス	2	トリコフィトン属他皮膚糸状菌
3	アフリカブタコレラウイルス	28	ブタE型肝炎ウイルス	原虫 (18種)	
4	ブタポックスウイルス	29	メナングルウイルス	1	トキノプラズマ*
5	ブタエンテロウイルス	30	ニパウイルス	2	コクシジウム
6	ブタ水疱病ウイルス	31	ハンタウイルス	3	バランチジウム
7	ブタ水疱疹ウイルス	32	東部ウマ脳炎ウイルス	4	クリプトスポリジウム
8	水胞性口炎ウイルス	33	西部ウマ脳炎ウイルス	5	サルコシステイス
9	ブタコレラウイルス	34	ベネズエラウマ脳炎ウイルス	6	バベシア
10	日本脳炎ウイルス	35	ボルナウイルス	7	トリパノソーマ属
11	ブタ伝染性胃腸炎ウイルス	36	アポイウイルス	8	ブタ回虫
12	ブタインフルエンザウイルス	37	ポリオーマウイルス	9	トキンカラ
13	口蹄疫ウイルス	38	牛ウイルス性下痢ウイルス	10	エキノコッカス
14	脳心筋炎ウイルス	39	牛伝染性鼻気管炎ウイルス	11	紅色毛様線虫
15	狂犬病ウイルス	40	ロタウイルス	12	蛭状鉤頭虫
16	ブタアデノウイルス	41	ブタトルクテノウイルス	13	肺虫
17	アストロウイルス	42	ブタ内在性レトロウイルス	14	糞線虫
18	ゲタウイルス	43	ブタサーコウイルス	15	有鉤糸虫
19	ブタ繁殖・呼吸障害症候群ウイルス	44	ブタスピニューマウイルス	16	繊毛虫
20	ブタ流行性下痢ウイルス			17	毛様線虫
21	レオウイルス			18	ブタ鞭虫
22	ブタサイトメガロウイルス				
23	ブタ血球凝集性脳脊髄炎ウイルス				
24	ブタ呼吸器型コロナウイルス				
25	ブタブラウイルス				

病原体名の表記は引用元³⁾に従った。番号は便宜上記載した。我々の研究グループでは網掛けの病原体について検査系を確立している(*トキノプラズマについては *Toxoplasma gondii* の検査系のみ)。

イコプラズマをはじめ多くの種でヒトにも感染する危険性がある。

ブタで頻繁に感染が確認される病原体としては、前述の PRRSV、ブタサーコウイルス (PCV)、ブタリンパ球向性ヘルペスウイルス (PLHV)、ブタサイトメガロウイルス (PCMV) が挙げられる¹⁾。これらは、いずれもヒトへの感染が確認されていないが、だからといって移植片に感染していてもよいということではない。移植片にこれらの病原体が感染していた場合、移植片自体の炎症を惹起したり、移植片からの炎症性サイトカイン放出を促したりする可能性があり、これが移植片の機能や生着を阻害すると考えられている⁴⁾。実際、PCMV陽性の移植片は、陰性のものよりも異種移植時の生着成績が悪いことが報告されている⁵⁾。

表1には他にも多くのウイルスの名が示されているが、ヒトへの感染性が明確になっていないものも多い。恐らくほとんどのもので健常なヒトへの感染性はないと予想されるが、免疫抑制状態の感染性についてはより注意が必要であり、感染性がないからといって無視してもよいことにならないのは前述した通りである。また、飼育や食肉の際にブタからヒトに起こる感染では、基本的に鼻咽頭、消化管といった多くの感染防御システムが配備された「粘膜」を介しているが、移植時に起こる感染は「体内」で起こる。そのため、これまで飼育や食肉においてブタからヒトへの感染が確認されていない病原体だからといって、移植時に問題にならないとは言いきれない。

以上のように、異種移植の際に注意すべき病原体、言い換えると「これらのリスクを排除しておけば問題ない」と言える病原体の統一的なリストは、いまだ定義されていない。もちろん、人獣共通感染症を引き起こす病原体に関しては陰性であることがマストだが、その他の病原体に関しては、ドナーブタを飼育・維持する環境に応じた designated pathogen (指定病原体) として、国や地域で検査対象を決定しなければならないというのが現状である。

4. 感染症の検査法

感染症を検査する手法は大きく、①病原体の存在そのものを検査する方法、②病原体に対する抗体 (IgM や IgG) を検査する方法の2種類に分けられる。検査法としては①が基本で、手法の第一選択はPCR (ポリメラーゼ連鎖反応) である。PCRの他にも培養や検鏡による検出でも病原体の存在を確認することはできるが、感度、迅速性、スループットでPCRがこれらを上回る。PCRと同じく病原体の核酸を調べるという点では、次世代シーケンサーを使った手法

も選択肢の1つである。この手法には、検査対象を絞らず網羅的に検査することができるという大きな利点があるが、コスト面やスループットから考えると、PCRのようにルーチンの検査とするのは難しく、タイミングを絞った単発の検査としての活用が現実的である。

次世代シーケンサーを使った網羅的な検査とは異なり、PCRでは原則として1つの病原体に対して1つの検査系が必要である。遺伝子配列が類似している場合は、1つのPCR検査系で複数の病原体をカバーすることができるが、ウイルスは種間の遺伝子配列の多様性が高いため、1つのPCR検査系で複数のウイルスをカバーできるということは稀である。

ここで表1の病原体に対するPCR検査系の開発状況を紹介したい。我々の研究グループでは、表1の各病原体に対するPCR検査系の開発に取り組んでおり、2023年10月現在は表1で網掛けされた病原体、すなわちほとんどのウイルス、細菌に対する高感度のPCR検査系を確立している (表1; 特許出願済み)⁶⁾。全ての病原体を検査対象とすべきかについては後に議論するが、ほぼ全ての検査系は同一のPCR条件で実施可能であるため、仮に検査対象の病原体の数が多くなったとしても高いスループットでの検査が可能である。

現状で真菌や原虫についてほとんどカバーされていないのは、国内における医療用ブタの開発状況と関係している。医療用ブタの開発状況については割愛するが、現在開発が進んでいる医療用ブタの樹立手法の場合、最も懸念すべきものは垂直伝播する病原体である。垂直伝播する病原体にはウイルスが多いため、PCR検査系の開発では特にウイルスを優先した。原虫のなかでトキソプラズマ (*Toxoplasma gondii*) のPCR検査系だけが確立済みであるのも、この病原体は垂直伝播することがわかっているからである⁷⁾。

なお、ブタ内在性レトロウイルス (PERV) は、その存在をPCRで正確に検査できない病原体である。PERVは、遺伝子改変技術でロックアウトした場合を除き⁸⁾、ドナーの細胞とヒト細胞を共培養することでPERV感染性の有無を検査する必要がある。これについても我々は、既存の共培養手法の精度をより高めた手法を既に確立済みである (2023年10月現在、論文準備中; 特許出願済み)。

②の病原体に対する抗体 (IgM や IgG) を検査する方法 (抗体検査) は、感度ではPCRに劣るものの、過去にその病原体に感染した可能性を知ることができるという利点もある。これは、不顕性としていずれかの臓器に病原体が潜んでいる可能性を考えるうえで重要な情報である。

また、血液が検査対象試料の場合は、PCR検査よりも抗

体検査の方が有効なこともある。これは、病原体によっては感染局所に留まる期間が長く、血液中に現れることが稀、またはウイルス血症になってからということがあるが、こういった場合でも当該病原体に対する抗体は血液で検出できることが多い。

ここで、表1の病原体に対する抗体検査についての開発状況をみてみたい。人獣共通感染症、および前述したブタで頻繁に感染が確認される病原体 (PRRSV, PCV, PLHV, PCMV) に関しては、PLHVを除き、市販キットが利用できる。PLHVに関しても特異的抗体を検出する手法が報告されているため⁹⁾、これらを参考にすることで比較的早期の確立が期待できる。しかし、その他の病原体の抗体検査については、残念ながら大半が未開発という状況である。移植後のレシピエントのフォローアップ検査では血液が主要な検査試料になると想定されるため、少なくとも PRRSV, PCV, PLHV, PCMV 以外の国内で感染が懸念される病原体については、開発しておく方がベターと言える。

5. 感染症リスクの国内における検査体制の現状と課題

近年、異種移植の実現の機運が国内でも急激に高まっているが、これには感染症リスクの検査体制の構築が欠かせない。感染症リスク検査法の開発状況については前述の通りであり、抗体検査という点で移植後のレシピエントのフォローアップ検査には多少の課題を残すものの、異種移植の実現の障害となる段階ではない。また、我々の研究グループが開発した手法については、技術移転する企業が決まっており、検査体制構築の準備も整い始めている。残された大きな課題は、前述の指定病原体の国内向けのリストの作成と、検査のタイミングの定義である。現状、有事に備える意味でも可能な限り多くの検査系を準備しているが、表1の全ての病原体を検査することは費用的も時間的にも負担であり、2023年10月現在開発中の手法で樹立される医療用ブタで全ての病原体を検査する必要性も低い。そのため、日本で開発される医療用ブタに合った指定病原体リストを作成することは必須であり、さらに、このリスト中

の病原体をいつ、どのような試料で検査するのかを定義することで、より効率的かつ堅実な検査が可能になる。実際、ブタ豚島の移植で先行するニュージーランドにおける検査では、指定病原体リストを26種(ウイルス15種、細菌8種および原虫3種)まで絞っており、検査のタイミングや試料を分けることで効率的な検査を実現している(表2)¹⁰⁾。国内でもこれらの定義なくしては検査体制の完備はありえないため、喫緊の課題である。また、iPS細胞(人工多能性幹細胞)を使ったキメラブタがドナーとなる可能性が出てきているが、こういったドナーは容易に代替が効かないことが多い。このようなドナーでヒトへの感染性がない病原体が陽性であった場合、移植に踏み切るのか否か、その意思決定のプロセスを整えておくことも課題の1つといえるだろう。これらの課題の解決は容易ではないが、ニュージーランドや米国の事例を参考に対処すれば、決して不可能ではない。これらの課題の解決は、異種移植の早期実現のための重要なピースの1つといえるだろう。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) Fishman JA: Risks of Infectious Disease in Xenotransplantation. *N Engl J Med* **387**: 2258-67, 2022
- 2) Eksler B, Cooper DKC, Tector AJ: The need for xenotransplantation as a source of organs and cells for clinical transplantation. *Int J Surg* **23**: 199-204, 2015
- 3) 厚生労働省: 異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針. <https://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/isyoku/sisin.html> Accessed 18 Aug 2023
- 4) Denner J, Längin M, Reichart B, et al: Impact of porcine cytomegalovirus on long-term orthotopic cardiac xenotransplant survival. *Sci Rep* **10**: 17531, 2020
- 5) Yamada K, Tasaki M, Sekijima M, et al: Porcine cytomegalovirus infection is associated with early rejection of kidney grafts in a pig to baboon xenotransplantation model. *Transplantation* **98**: 411-8, 2014
- 6) Otabi H, Miura H, Uryu H, et al: Development of a panel for detection of pathogens in xenotransplantation donor pigs. *Xenotransplantation* **28**: e12825, 2023
- 7) Basso W, Handke M, Sydler T, et al: Involvement of *Toxoplasma gondii* in reproductive disorders in Swiss pig

表2 ニュージーランドにおける異種移植用ドナーブタの感染症検査タイミングと対象病原体 (Wynardら¹⁰⁾より作成)

病原体	検査タイミングと対象病原体 *1			
	コロニーにおける 定期検査(血液)	分娩前後の 母豚(血液)	ドナー子豚 (血液)*2	移植用臍島*3
ウイルス				
1 ブタサーコウイルス 1型	1年ごと			
ブタサーコウイルス 2型	四半期ごと	○	○	○
2 ブタリンパ球向性ヘルペスウイルス 2型	四半期ごと	○	○	○
3 ブタサイトメガロウイルス	四半期ごと	○	○	○
4 ロタウイルス (A型・B型・C型)	1年ごと			
5 レオウイルス	1年ごと			
6 ブタテシオウイルス	1年ごと			
7 ブタエンテロウイルス B型	1年ごと			
8 ブタ血球凝集性脳脊髄炎ウイルス	1年ごと			
9 ブタE型肝炎ウイルス	四半期ごと	○	○	○
10 牛ウイルス性下痢ウイルス	四半期ごと			
11 オーエスキー病ウイルス	1年ごと			
12 ブタパルボウイルス	四半期ごと	○		
13 ブタ繁殖・呼吸障害症候群ウイルス	1年ごと			
14 脳心筋炎ウイルス	1年ごと			
細菌				
1 <i>Leptospira tarrasovi</i>	四半期ごと	○		
2 <i>Leptospira hardjo</i>	四半期ごと	○		
3 <i>Leptospira pomona</i>	四半期ごと	○		
4 <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	1年ごと	○		○
5 <i>Campylobacter</i> spp.	1年ごと			
6 <i>Yersinia</i> spp.	1年ごと			
7 <i>E. coli</i> K88	1年ごと			
8 <i>Salmonella</i> spp.	1年ごと			
原虫				
1 <i>Toxoplasma</i> spp.	四半期ごと	○	○	○
2 <i>Isoospora</i> spp.	1年ごと			
3 <i>Cryptosporidium</i> spp.	1年ごと			

*1○：検査対象，*2解剖・検視も行う，*3細胞外毒素の測定および培養による無菌状態の確認も行う

- farms. Parasitol Int **64**: 157-60, 2015
- 8) Niu D, Wei HJ, Lin L, et al: Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. Science **357**: 1303-7, 2017
- 9) Plotzki E, Keller M, Ehlers B, et al: Immunological methods

- for the detection of porcine lymphotropic herpesviruses (PLHV). J Virol Methods **233**: 72-7, 2016
- 10) Wynyard S, Nathu D, Garkavenko O, et al: Microbiological safety of the first clinical pig islet xenotransplantation trial in New Zealand. Xenotransplantation **21**: 309-23, 2014