

# 臨床検体からの高効率ウイルス分離を 実現する新規細胞株技術

宮崎大学 農学部 獣医学領域  
准教授 齊藤 暁

2025年12月4日

# 家畜ウイルス感染症における莫大な経済的被害

## アフリカ豚熱 (ブタ)

疫学：自然界 (アフリカ型)

- ✓ イボイノシシ-ダニ (イボイノシシは無症状)
- ✓ ヒメダニ
- ✓ 節足動物媒介性ウイルス

ブタ-ブタ間の接触感染

(粘液、血液、尿、糞便：イタリア型)

- ✓ 空気感染 (汚染飼料、床敷)
- ✓ 機械的伝播 (注射、サシバ工)
- ✓ タンパク質内で長期感染性保持 (残飯、肉製品、薫製)

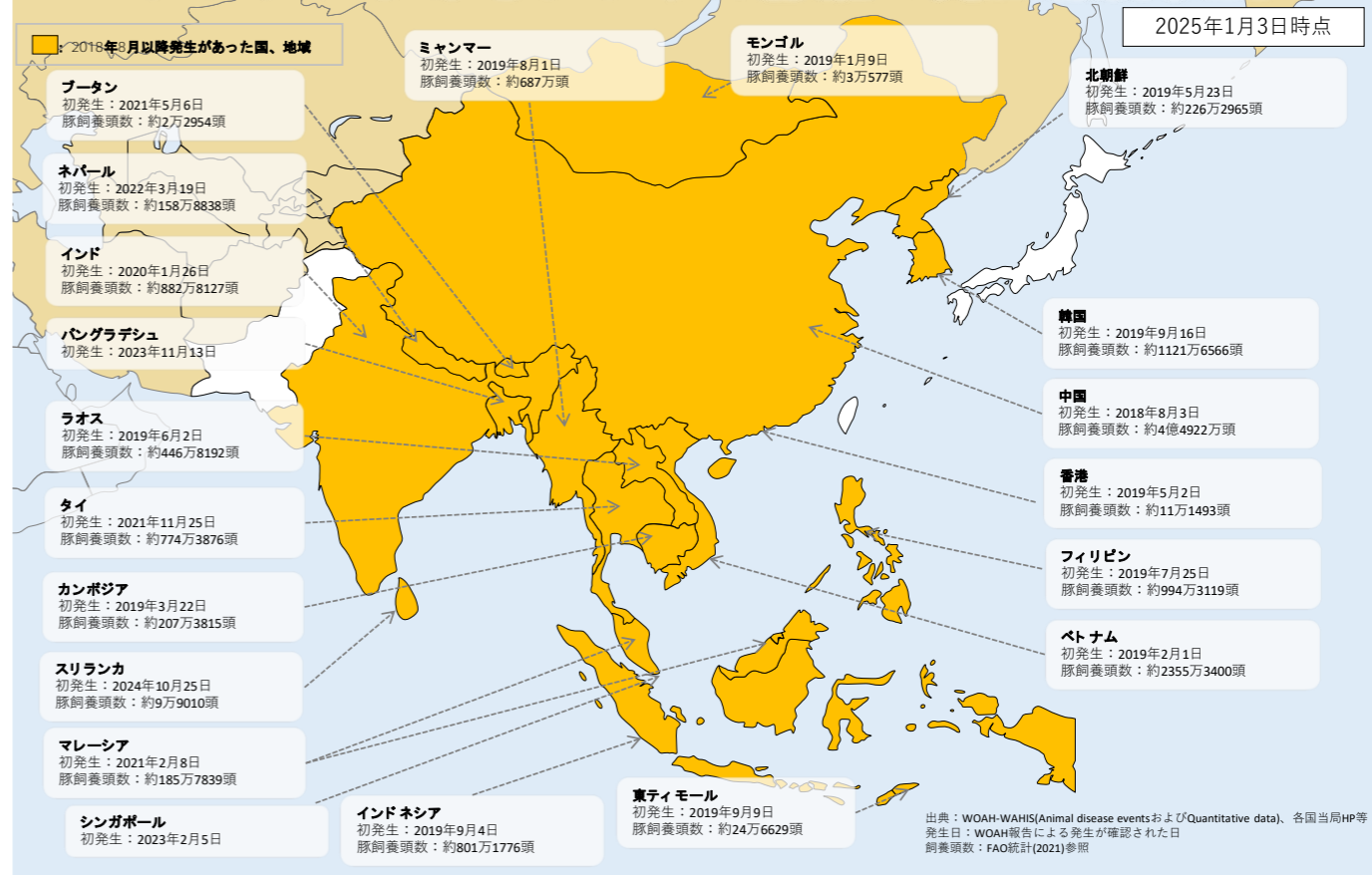
病態：発熱、粘液血便

食欲減退、高熱、出血性病変

(内臓、皮膚)、致死率はほぼ100%

対策：有効なワクチンがなく、対策が極めて困難

## アジアにおけるアフリカ豚熱の発生報告状況



出典：農林水産省ウェブサイト (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/asf.html>)

2022年から2025年にかけて210万頭以上のブタが処分  
されており、被害額は数千億ドルに達する<sup>2</sup>

<sup>2</sup> (出典：WOAH)

# 家畜ウイルス感染症における莫大な経済的被害

## ランピースキン病 (ウシ)

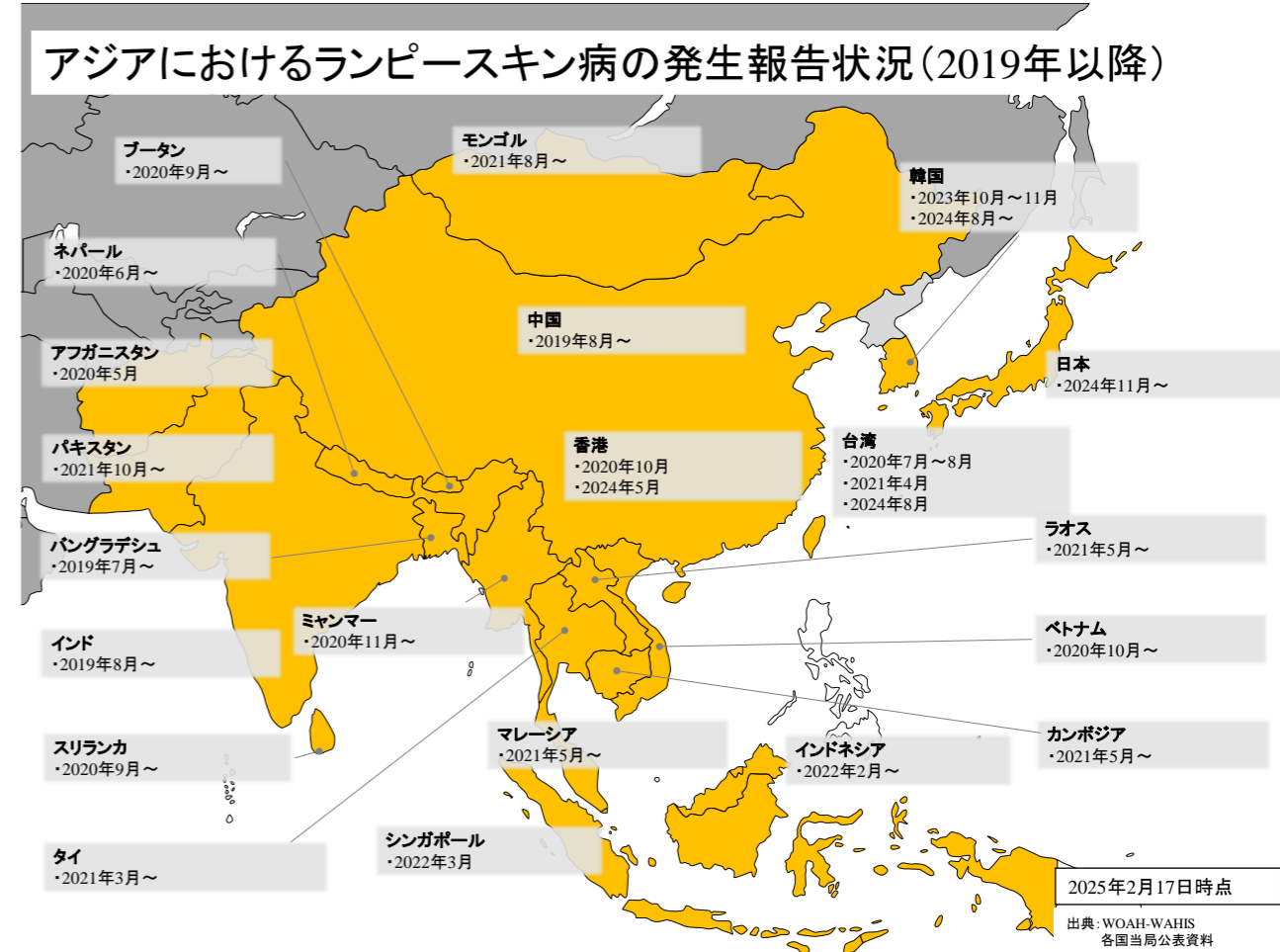
ウイルス: カプリポックスウイルス属  
ランピースキン病

疫学: アフリカ、中近東、アジア (日本も)  
唾液、唾液汚染試料による接触感染  
節足動物により媒介

病態: 発熱、元気消失、流涎、皮膚結節  
感染率5~50%、致死率2%

検査: ウイルス分離、好酸性細胞質内封入体の確認  
間接蛍光抗体法 (IFA)、中和試験 (NT)

予防、治療: 汚染国における弱毒生ワクチン、  
輸入管理、摘発淘汰



出典: 農林水産省ウェブサイト (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/lld.html>)

被害額は14.5億ドルに達すると推計されている

(出典: WOA)

# 家畜ウイルス感染症における莫大な経済的被害

## 今シーズンの発生事例・防疫措置の進捗状況 ①

○ 今シーズンは、令和6年10月17日に国内1例目が確認されて以来、令和7年5月31日0時00分時点で14道県51事例発生し、約932万羽が殺処分の対象となっている。

## 鳥インフルエンザ (ニワトリ)

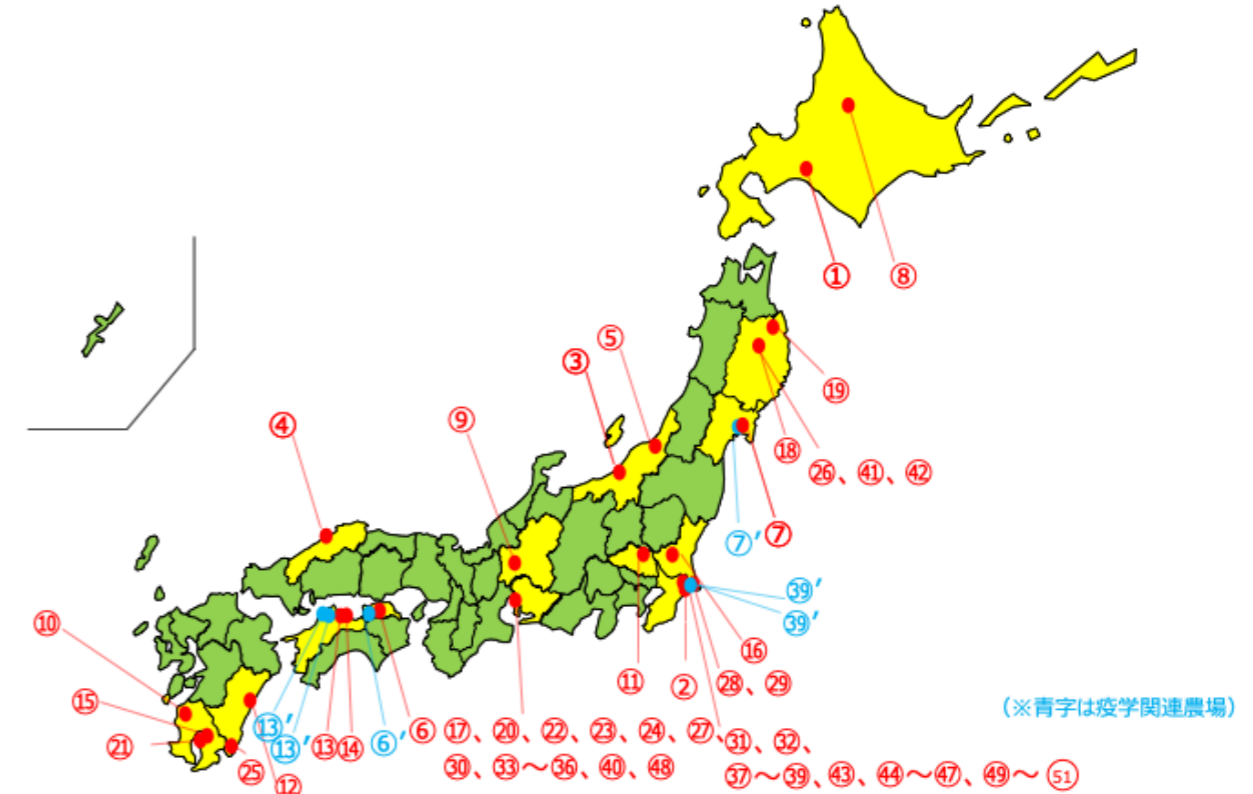
疫学：A型インフルエンザウイルスの自然宿主は野生水禽類

感染鳥との直接接触、排泄物による汚染、水、ハエ、ネズミ、ヒト、etc...

病態：突然死、起立不能、斜頸、産卵低下

検査：検体からのウイルス分離、PCR

対策：殺処分、移動制限



出典：農林水産省ウェブサイト  
([https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/r6\\_hpai\\_kokunai.html](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/r6_hpai_kokunai.html))

家禽の死亡・殺処分、貿易規制、対策費用が数十億ドル規模に達すると推計されている

4 (出典：WOAH)

## 家畜ウイルス感染症制御におけるウイルス分離の重要性

- 1) 当該ウイルスの病原性、伝播性の理解に不可欠
- 2) 中和試験など、ウイルス学的解析に不可欠
- 3) ワクチン開発の際の種ウイルス（シードウイルス）として極めて重要

## 1) 動物

- ✓ 本来の動物種（ブタのウイルスならブタ）→非現実的
- ✓ 実験動物→ウイルスが増殖しない場合が多い

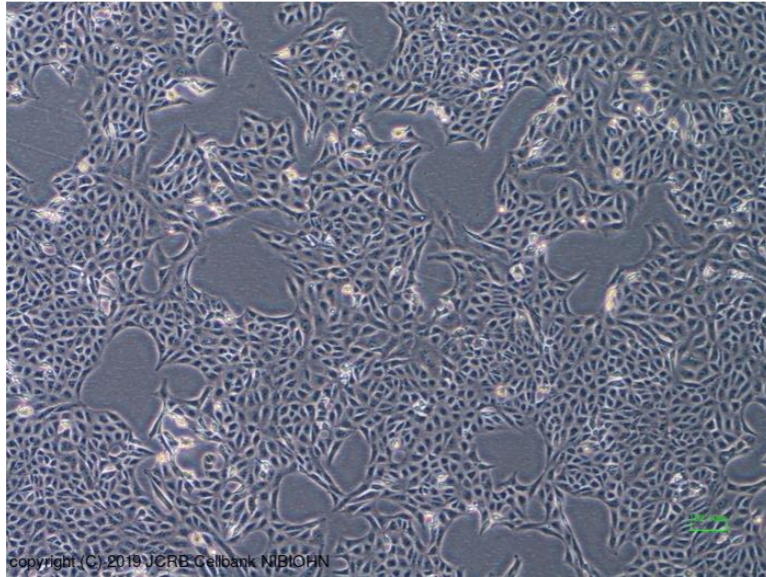
## 2) 培養細胞

- ✓ 初代分離細胞：動物の臓器から採取した細胞で、準備が大変で、また、状態を均一に揃えるのが難しい
- ✓ **株化細胞**：取り扱いが容易で、状態を均一に揃えやすい<sup>6</sup>

# Vero細胞は多くのウイルスの分離に汎用されている

JCRB0111:VERO(11062018) distribution  
end cell culture (x4)

by Ohtani,A



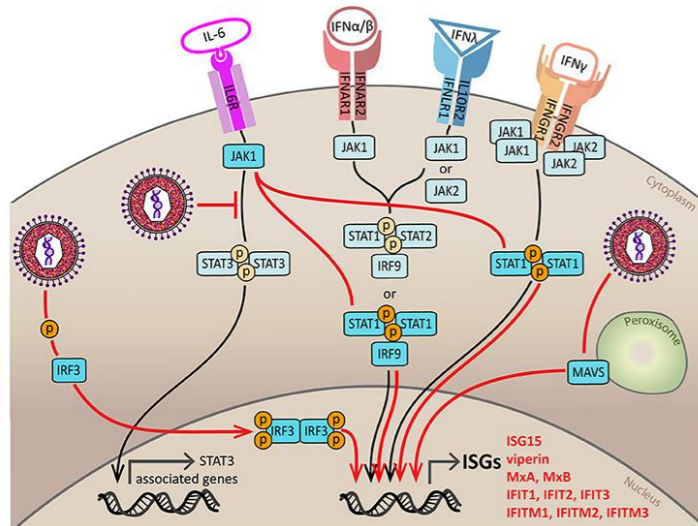
- ✓ アフリカミドリザル由来
- ✓ 日本で樹立
- ✓ 多くのワクチン製造に利用
- ✓ 多くの未知ウイルスの分離に利用
- ✓ Interferon (IFN) 遺伝子を欠損

→IFNを産生できない

→ウイルス分離の阻害リスクが低い

→多くのウイルスの分離に汎用される

## ウイルス感染とIFN応答



ISG  
interferon-stimulated  
gene

**本来の動物由来の細胞が必要なのではないか？**

既に実用化されているものには、Vero細胞やMARC-145細胞などアフリカミドリザル由来細胞を用いたウイルス分離、ワクチン製造法等があるが、

- 1) 本来の動物種とは異なること
- 2) インターフェロンなど自然免疫誘導物質による影響

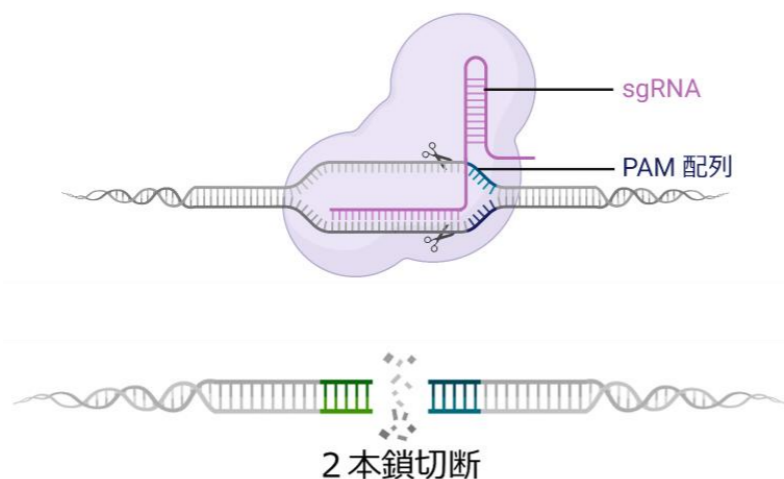
等の問題があり、その課題の解決は急務である

- 従来技術の問題点であった、ウイルス増殖時の複雑なプロトコルの簡略化に成功した
- 従来はVero細胞など特定の細胞を用いたウイルス分離、増殖方法に限定されていたが、本研究では本来の動物由来細胞で極めて高いウイルス増殖レベルを実現できたため、実際の検体への応用が期待できる
- 本技術の適用により、ウイルス増殖レベルが100~1,000倍向上するため、ワクチン製造コストが大幅に削減されることが期待される

# ブタ由来PK-15細胞におけるIfnar1遺伝子ノックアウト細胞の樹立

## CRISPR/Cas9法によるIfnar1遺伝子のノックアウト

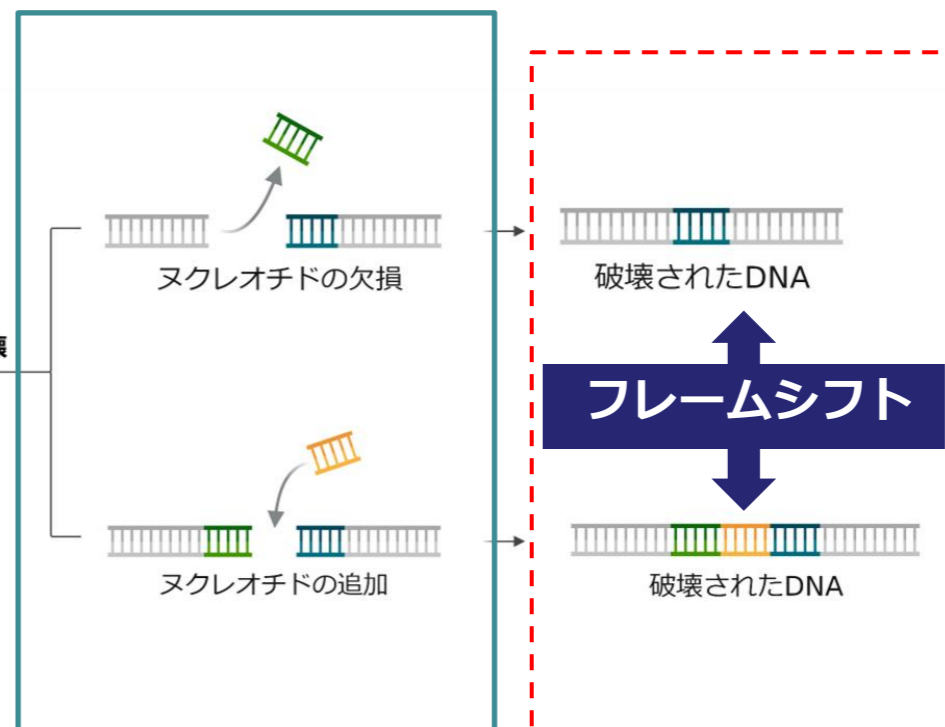
### CRISPR/Cas9



(BioRender.comで作成)

非相同末端結合  
目的の遺伝子を破壊

### 修復の過程



**タンパク質合成が阻害される**

**ブタIfnar1遺伝子に対するガイドRNAを4つ設計**

RESEARCH ARTICLE

Generation of porcine PK-15 cells lacking the *Ifnar1* or *Stat2* gene to optimize the efficiency of viral isolation

Maya Shofa<sup>1,2</sup>, Akatsuki Saito<sup>1,2,3\*</sup>

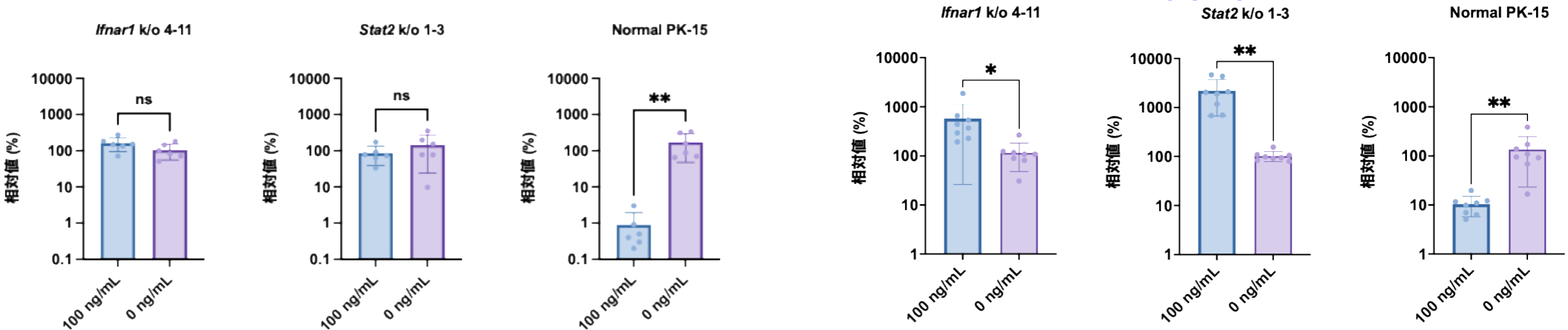
<sup>1</sup> Department of Veterinary Science, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan, <sup>2</sup> Graduate School of Medicine and Veterinary Medicine, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan, <sup>3</sup> Center for Animal Disease Control, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan

Shofa et al., *PLOS ONE*, 2023

- 臨床検体からのウイルス分離効率の低さが問題となるケースがある
- Interferon (IFN) 応答のキャンセルによる分離効率改善を検討

## IFN処理

## Poly (I:C)処理



**IFNやIFN誘導性物質存在下でも高いウイルス増殖を実現**



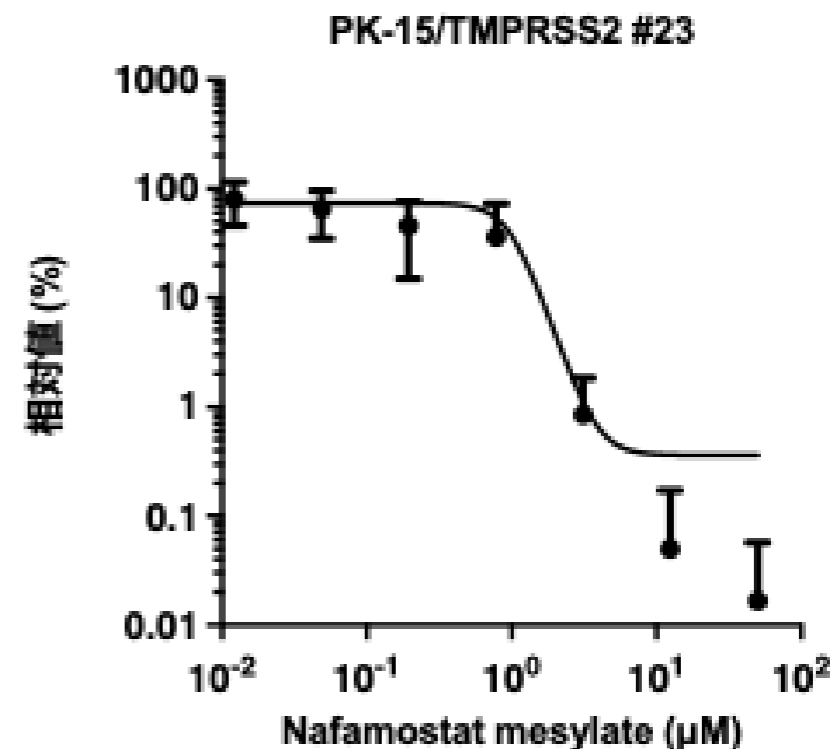
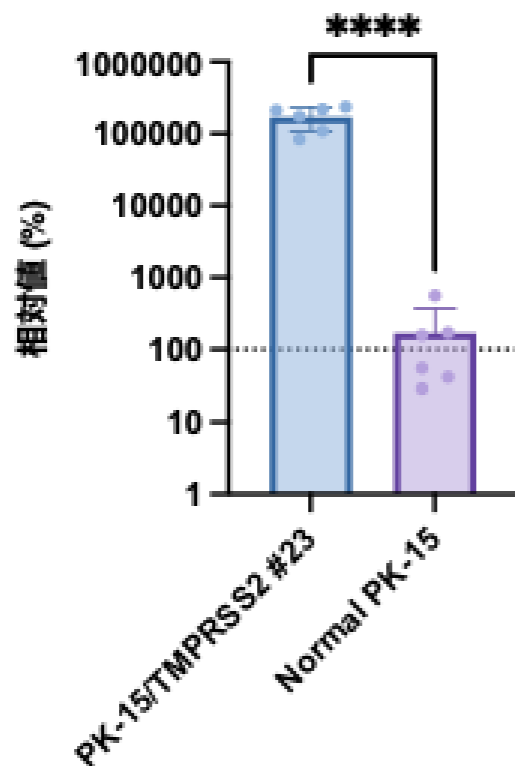
インフルエンザウイルスの増殖をサポートするTMPRSS2分子をブタ由来細胞に発現

Article

## Generation of a Porcine Cell Line Stably Expressing Pig TMPRSS2 for Efficient Isolation of Swine Influenza Virus

Yuri L Tanaka<sup>1</sup>, Maya Shofa<sup>1,2</sup>, Erika P Butlertanaka<sup>1</sup>, Ahmad Massoud Niazi<sup>2,3</sup>, Takuya Hirai<sup>2,3</sup>, Hirohisa Mekata<sup>4</sup> and Akatsuki Saito<sup>1,2,4,\*</sup>

Tanaka et al., *Pathogens*, 2024



TMPRSS2阻害薬の評価にも利用可能

煩雑な作業なしに1,000倍以上のウイルス増殖レベルを実現

New Results

Follow this preprint

## Development of a Porcine Cell Line Stably Expressing Ephrin-B2 for Nipah Virus Research and Diagnostic Testing

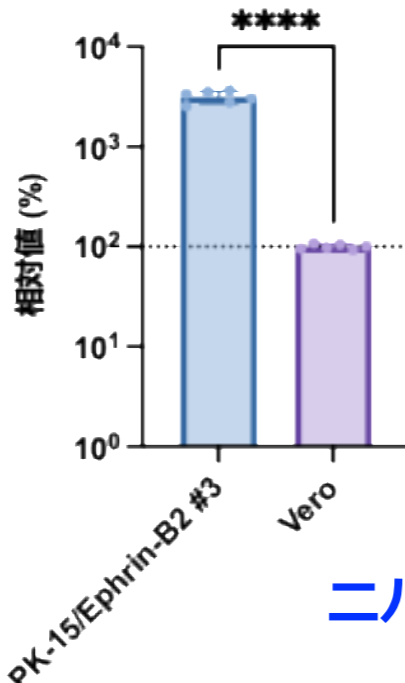
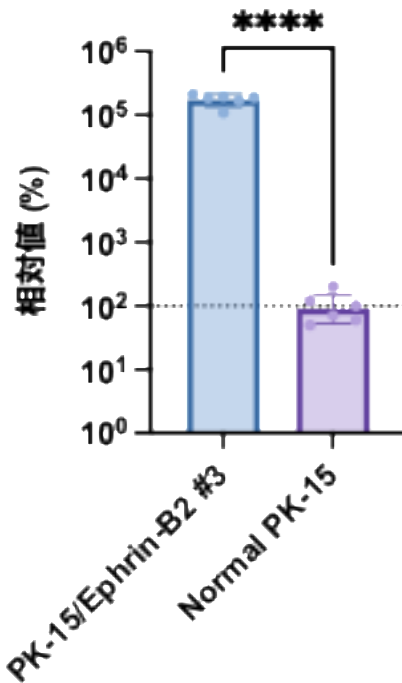
Hui Zhang, Akatsuki Saito

doi: <https://doi.org/10.1101/2025.09.30.679668>

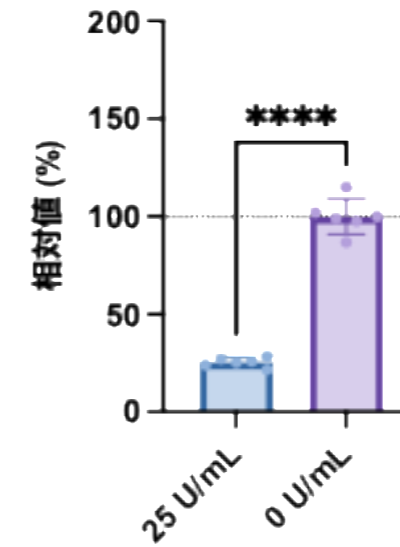
This article is a preprint and has not been certified by peer review [what does this mean?].

Zhang et al., *Microbiology and Immunology*, 2025

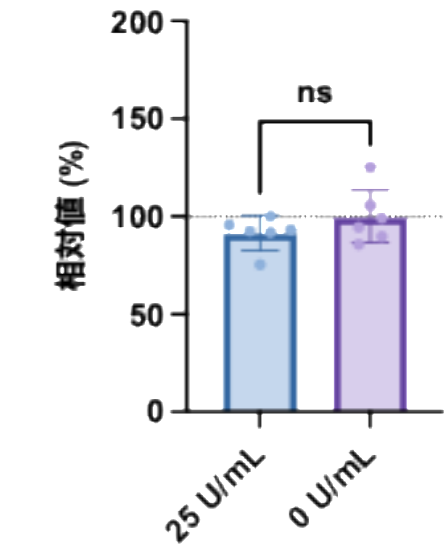
## ニパウイルスのレセプターであるEphrin-B2分子をブタ由来細胞に発現



PK-15/EphrinB2 #3



PK-15 (Stat2 k/o)/EphrinB2



IFN非応答性細胞との組み合わせ

ニパウイルス研究に汎用されるVero細胞より数十倍高い感受性を実現

1,000倍以上の感染感受性の向上を実現

- 本技術の特徴を生かすためには、ワクチン製造の際のコスト削減のメリットが大きいと考えられる
- 上記以外に、ワクチン製造の際の元となるシードウイルス分離効率向上の効果が得られることも期待される
- また、上記の特性に着目すると、現在ワクチンによる対策が困難な感染症に応用、展開することも可能と思われる

- 現在、効率良いウイルス増殖が可能なところまで検証済み
- しかし、実際のワクチン製造におけるメリットの検証が未解決である
- 今後、ワクチン製造に適用していく場合の条件設定を行っていく
- 実用化に向けて、細胞バンク由来でない細胞を自前で樹立することで権利上の課題を解決できる

# 社会実装への道筋

時期	取り組む課題や明らかにしたい原理等	社会実装へ取り組みについて記載
基礎研究	<ul style="list-style-type: none"><li>・ 高いウイルス感受性を検証（インフルエンザウイルス、ニパウイルス）</li></ul>	
現在	<ul style="list-style-type: none"><li>・ アフリカ豚熱ウイルスレセプター高発現細胞の樹立の完了</li><li>・ 細胞バンク由来ではなく、自前で細胞を入手し、不死化を行う</li></ul>	
1年後	<ul style="list-style-type: none"><li>・ 国内外におけるアフリカ豚熱ウイルス感受性試験</li><li>・ 海外共同研究先（フランス）のBSL-4実験室におけるニパウイルス感受性試験</li></ul>	デモンストレーション実施
3年後	<ul style="list-style-type: none"><li>・ ワクチン製造試験（性能、安定性試験の実施）</li><li>・ 大規模培養系の確立を実現（設備、培養条件の最適化を実現）</li></ul>	評価基礎データの提供 サンプル提供が実現
5年後	<ul style="list-style-type: none"><li>・ 海外への展開（技術移転、検証実験の実施）</li></ul>	試験サービスの実現

- どれくらいワクチン製造コストの低減につながるかの検証が必要
- 家畜用ワクチン製造技術を持つ、企業との共同研究を希望
- 国内外で家畜用ワクチン製造、販売への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる

- 本技術はウイルス分離、増殖効率を劇的に向上させるため、ワクチン製造コストの大幅な削減など、企業に貢献できると考えている
- 本技術の導入にあたり必要な追加実験を行うことで科学的な裏付けを行うことが可能
- 本格導入にあたっての技術指導等も可能

## 発明1

- 発明の名称：臨床検体からのウイルスの分離方法
- 出願番号：特願2023-051037
- 出願人：宮崎大学
- 発明者：マヤ ショーフア、齊藤 暁

## 発明2

- 発明の名称：ブタ由来培養細胞、及びそれを用いたウイルス増殖方法及びウイルス分離方法
- 出願番号：特願2024-178528
- 出願人：宮崎大学
- 発明者：田中友理、齊藤 暁

## 発明3

- 発明の名称：エフリンB 2を発現するブタ由来細胞
- 出願番号：特願2025-165089
- 出願人：宮崎大学
- 発明者：チャン フーイ、齊藤 暁

- ViSpot社と共同研究実施
- LTTバイオファーマ社と共同研究実施

国立大学法人宮崎大学  
研究・産学地域連携推進機構  
知的財産・研究リスクマネジメント部門

TEL 0985-58-7592  
e-mail [chizai-s@miyazaki-u.ac.jp](mailto:chizai-s@miyazaki-u.ac.jp)