

# ガンマ線照射によるウイルスの不活化の過去の事例・データ

株式会社コーガアイソトープ

営業部 廣庭 隆行

# 本日の内容

- ウイルス不活化の目的
- 不活化が必要となる製品
- ウイルスとは
- 放射線耐性について
- 過去の不活化データ
- 当社の不活化データ
- 冷凍血清の照射例
- まとめ

# 1. 医療機器、再生医療等での ウイルス不活化の目的

- 生物由来の医療機器、医薬品の登場
- 再生医療による細胞培養と臓器製造

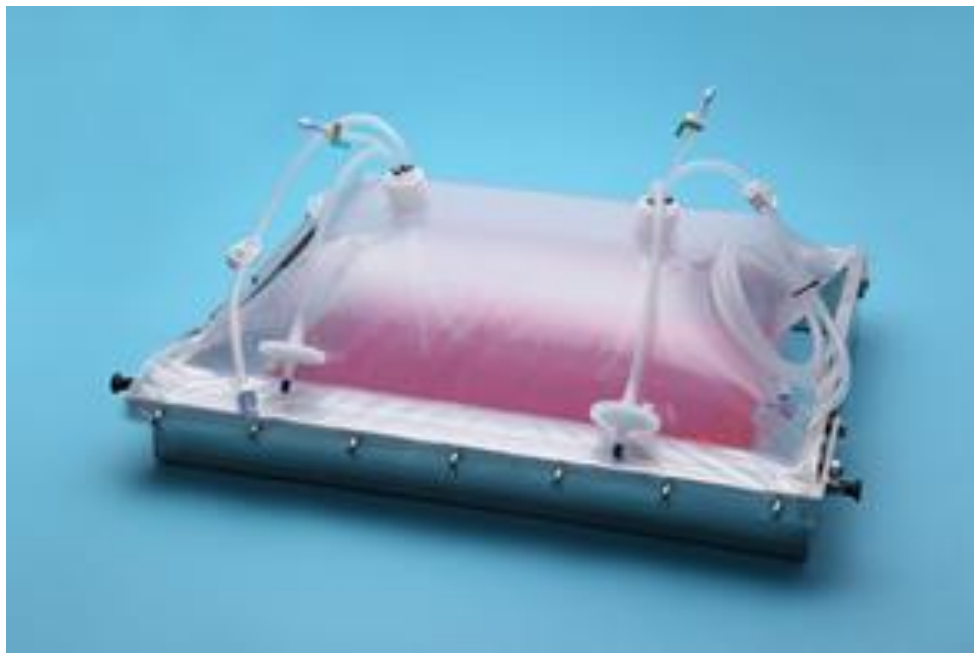
⇒いずれもウイルスが存在、または侵入する恐れがある

## 2. 放射線によるウイルスの不活化が必要となる製品

- ウシ胎児血清  
(冷凍したまま処理できる)
- 生物由来の医薬品、医療機器  
(最終製品での処理が可能、熱がかけられないものなど)
- 細胞培養容器、器具 (主に滅菌目的)  
(プラスチックなどの熱がかけられないもの)

# 再生医療分野で用いられるガンマ線照射

- 細胞培養の容器 単回使用のバック・チューブ



ZACROS(株)様 ホームページより

# ウイルス汚染を防ぐガンマ線照射

## • 冷凍ウシ胎児血清 (FBS)

再生医療に使われる細胞培養に必要。

ウシ胎児血清には、牛ウイルスが多く存在。

未知のウイルスの可能性もあり、ガンマ線照射による不活化は非常に重要！

細胞加工物のウイルス安全性について,遊佐敬介, 苑宇哲, Bull. Natl Inst. Health Sci., 134, 1-4 (2016) 出典1

EMA のガイドラインでは、 $\gamma$ 線照射等によってウイルスを不活化することで FBS の安全性を確保するように記載されている

EMA: EUROPEAN MEDICINES AGENCY Guideline on the use of bovine serum  
In the manufacture of human biological medicinal products

# 3. ウイルスとは

ウィキペディアより

- ウイルスは、他の生物の細胞を利用して、自己を複製させることのできる微小な構造体  
(数十～数百 nm程度)
- タンパク質の殻とその内部に入っている核酸からなる。生命の最小単位である細胞をもたない  
ので、非生物とされることもある。
- 感染先はウイルスの種類により限られる。

よって、ウイルスについては、通常死滅ではなく、不活化といわれる。

# ウイルスの分類

通常の細胞性の生物は2本鎖DNAに遺伝情報を保存しているが、ウイルスの場合にはゲノムは1本鎖であったり2本鎖であったりする。またDNAではなくRNAを用いている場合もある。

- 2本鎖DNA ヘルペス、アデノウイルスなど
- 1本鎖DNA パルボウイルスなど
- 2本鎖RNA ロタウイルスなど
- 1本鎖RNA コロナウイルスなど



# 4. ウイルスの耐性について

## ウイルスは不活化しにくい？

### 放射線以外の不活化法

- 0.05-0.5%次亜塩素酸ナトリウム
- ウイルスは熱には比較的弱く、100℃の煮沸で20分間等で不活化できる。
- エンベロープを持つウイルスには、化学処理も可能
- 中空糸ウイルス除去膜によるろ過
- pH 4 溶液20-30℃保存での不活化

# 放射線での不活化 1

ウイルスは細菌類に比べ

- ・核酸含量が0.1～0.01倍と少ない
- ・サイズも小さい（1/10-1/100程度）

以上より、放射線生物学の標的説によると放射線耐性が強いことが予想される。

<http://www.rada.or.jp/database/home4/normal/ht-docs/member/synopsis/020228.html>（出典2）

# 放射線での不活化 2 (出典 2)

- 室温・水共存下での放射線感受性は**D<sub>10</sub>**値で1.1～5.0kGyであり細菌芽胞と同等。
- ドライアイス凍結下または乾燥下でのD<sub>10</sub>値は2.6～6.5kGyに増加した。
- 医療廃棄物中の病原性ウイルス不活性化線量は15kGyで十分と思われ、凍結血清や乾燥畜産製品は20kGyで十分と思われる。

**D<sub>10</sub>**値：一桁減らすのに必要な放射線量

# 5. 過去の不活化データ (出典2)

表1 カナダで行われた組織培養細胞または血液  
中で増殖させた病原性家畜ウイルス類の室温で  
のガンマ線感受性

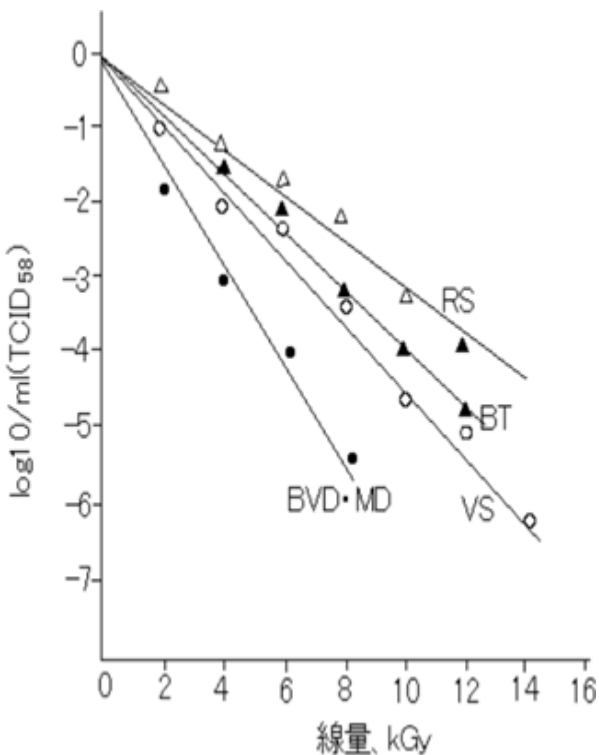
ウイルスの種類	科名	核酸型	分子量 ( $\times 10^6$ ダルトン)	D <sub>10</sub> 値 (kGy)
ブタ・パルボウイルス	パルボウイルス	S-DNA	1.5~2.0	4.0
ピコルナ・テスチン ウイルス	ピコルナウイルス	S-RNA	2.5	2.8
ブタ小胞ウイルス	ピコルナウイルス	S-RNA	2.3	5.5
牛下痢性ウイルス	トガウイルス	S-RNA	3~4	2.0以下
マエデイビスナウイルス	レトロウイルス	S-RNA	6~7	3.5
鳥アデノウイルス	アデノウイルス	D-DNA	20~30	4.5
ブルータングウイルス	レオウイルス	D-RNA	12~15	2.0以下
牛伝染性鼻気管炎ウイルス	ヘルペトウイルス	D-DNA	54	2.0以下
偽恐水症ウイルス	ヘルペトウイルス	D-DNA	54	2.0以下
赤羽ウイルス	ブニヤウイルス	S-RNA	6~7	2.0以下
伝染性胃腸炎ウイルス	コロナウイルス	S-RNA	5~6	2.0以下
ニューカスルウイルス	パラミクソウイルス	S-RNA	5~8	2.0
鳥天然痘ウイルス	ポックスウイルス	D-DNA	125~185	2.2

表2 わが国で行われた各種病原性家畜ウイルスを血清中に懸濁した状態でのガンマ線感受性  
(出典2)

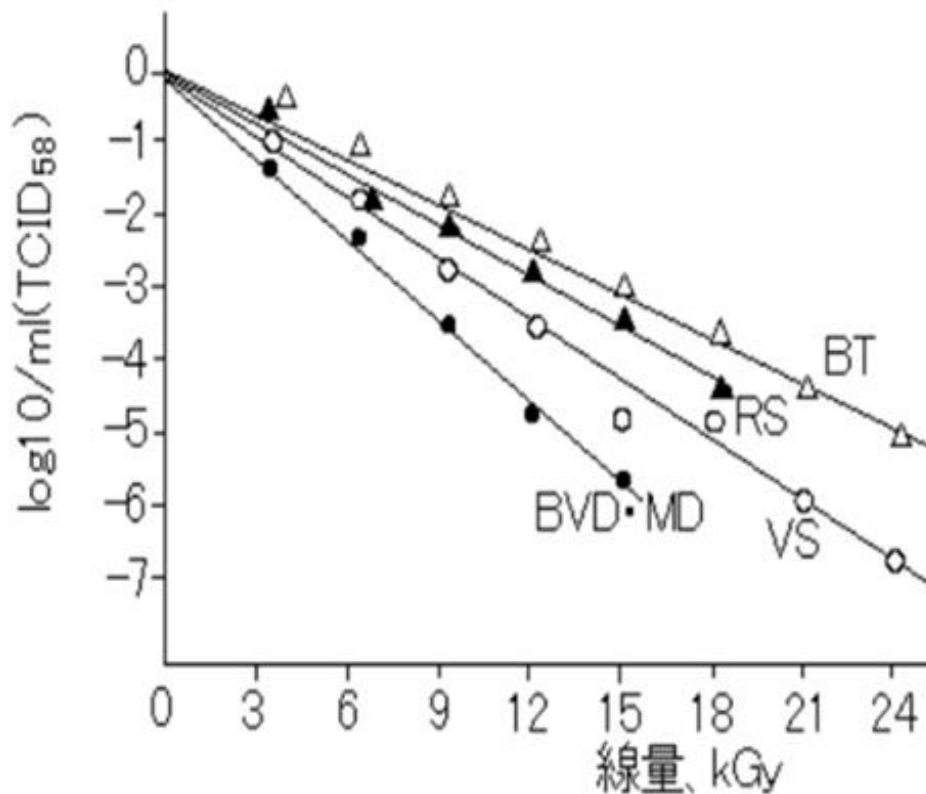
ウイルスの種類	核酸型	分子量 ( $\times 10^6$ ダルトン)	室温でのD <sub>10</sub> 値 (kGy)	凍結下でのD <sub>10</sub> 値 (kGy)
牛下痢性ウイルス (BVD-MD)	S-RNA	4	1.5	2.6
牛RSウイルス (RS)	S-RNA	5.8	3.4	4.4
水泡性口炎ウイルス (VS)	S-RNA	3.5~4.6	2.2	3.6
ブルータンク ウイルス (BT)	D-RNA	15	2.5	5.0
牛伝染性鼻気管炎 ウイルス (IBR)	D-RNA	54	1.1	3.4

# 室温または冷凍凍結中による差 (出典2)

凍結・乾燥により、放射線耐性は1.5-3倍上がる



室温下における生存曲線



ドライアイス凍結下における生存曲線

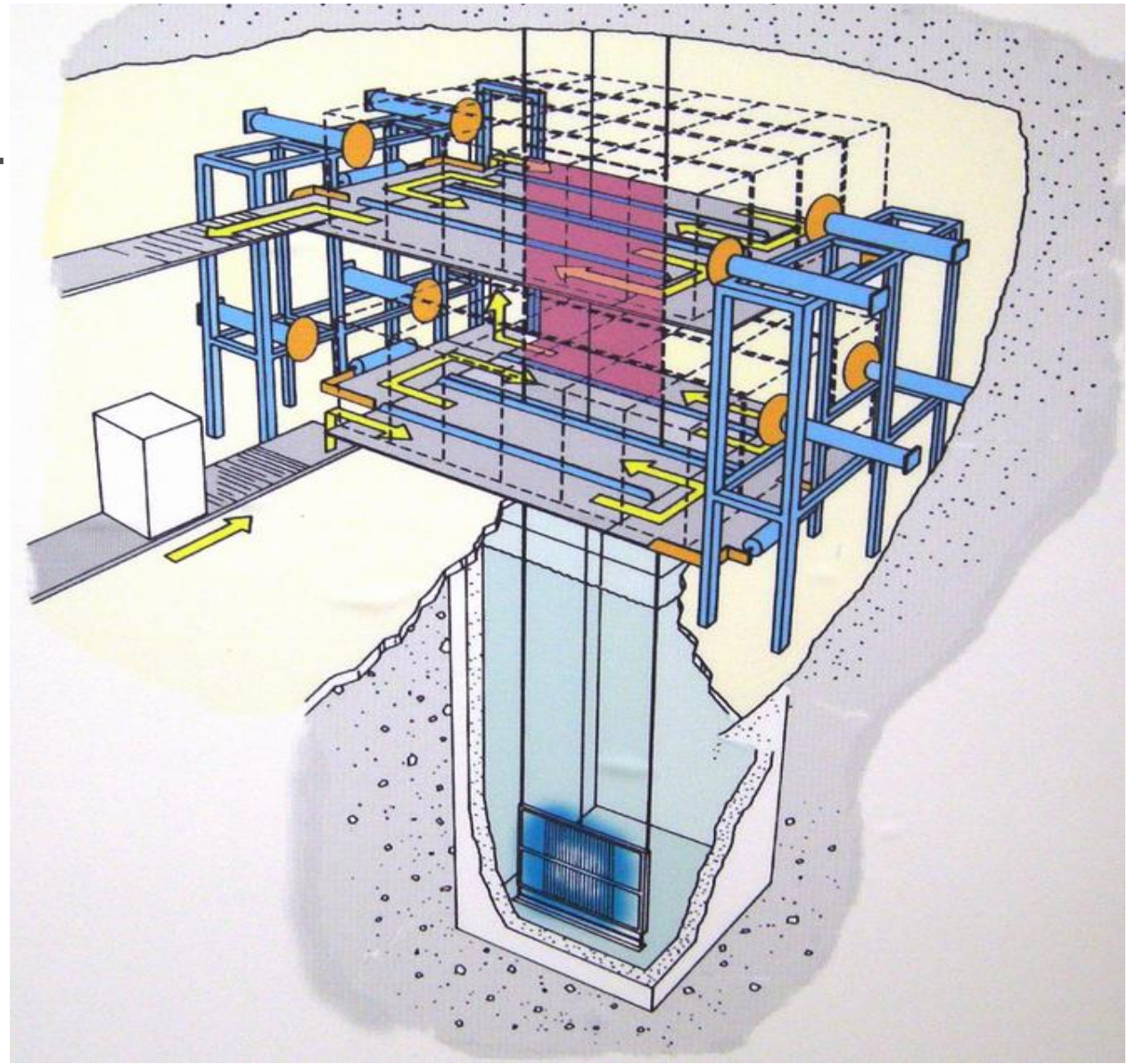
γ線照射によるRNAウイルスの不活化、野々宮他、食品照射,27,19-26(1992)

# 6. 当社で照射した不活化データ

- 試験時期 2006年度
- 目的 熱の影響を除去した放射線不活化データの調査
- 試験者 (財) 北里環境科学センター
- 試験場所 旧日本アイソトープ協会甲賀研究所  
(現コーガアイソトープ第二工場)
- 学会発表  
第6回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム



# 試験の様子 照射装置





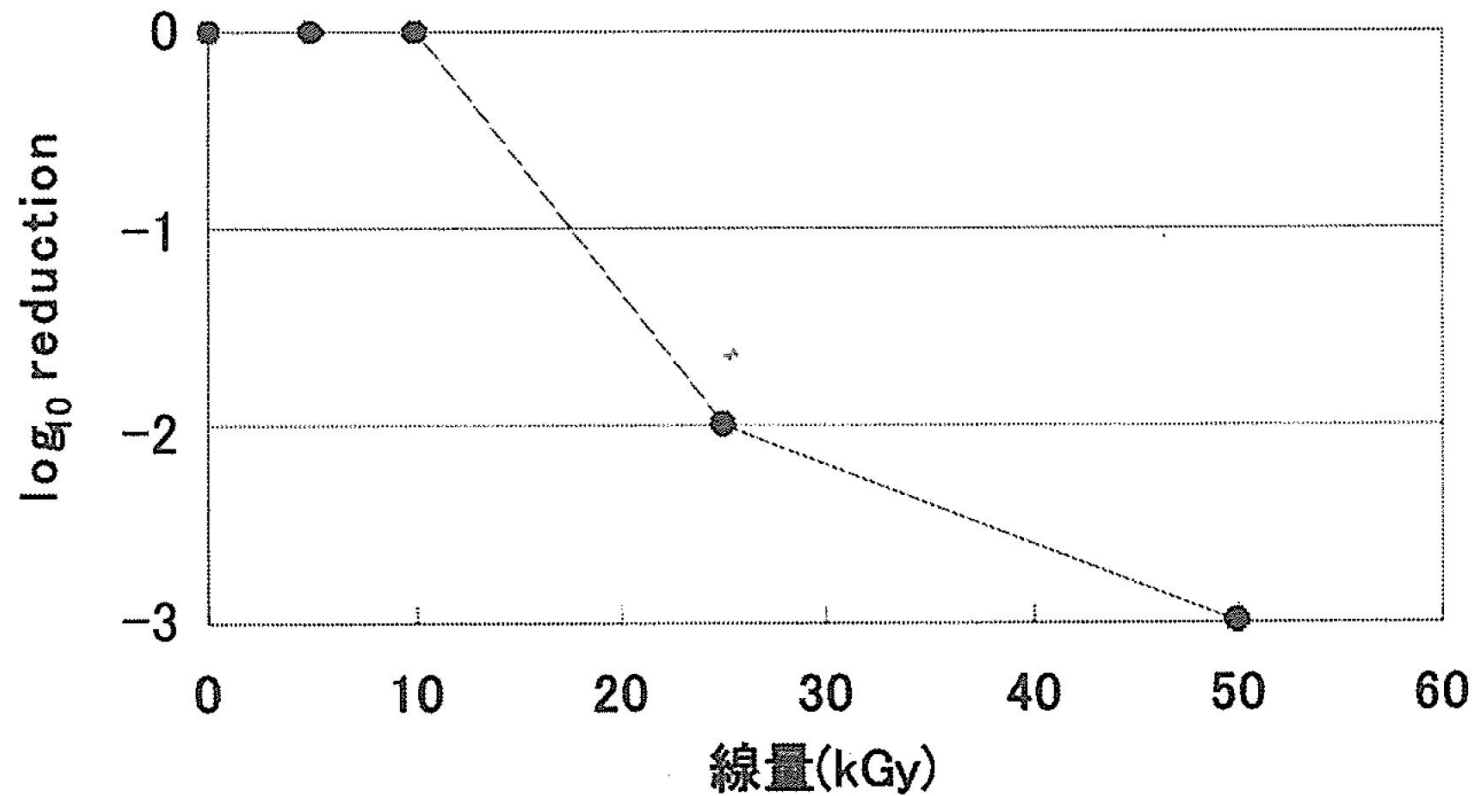
# 試験の様子



# 試験の様子

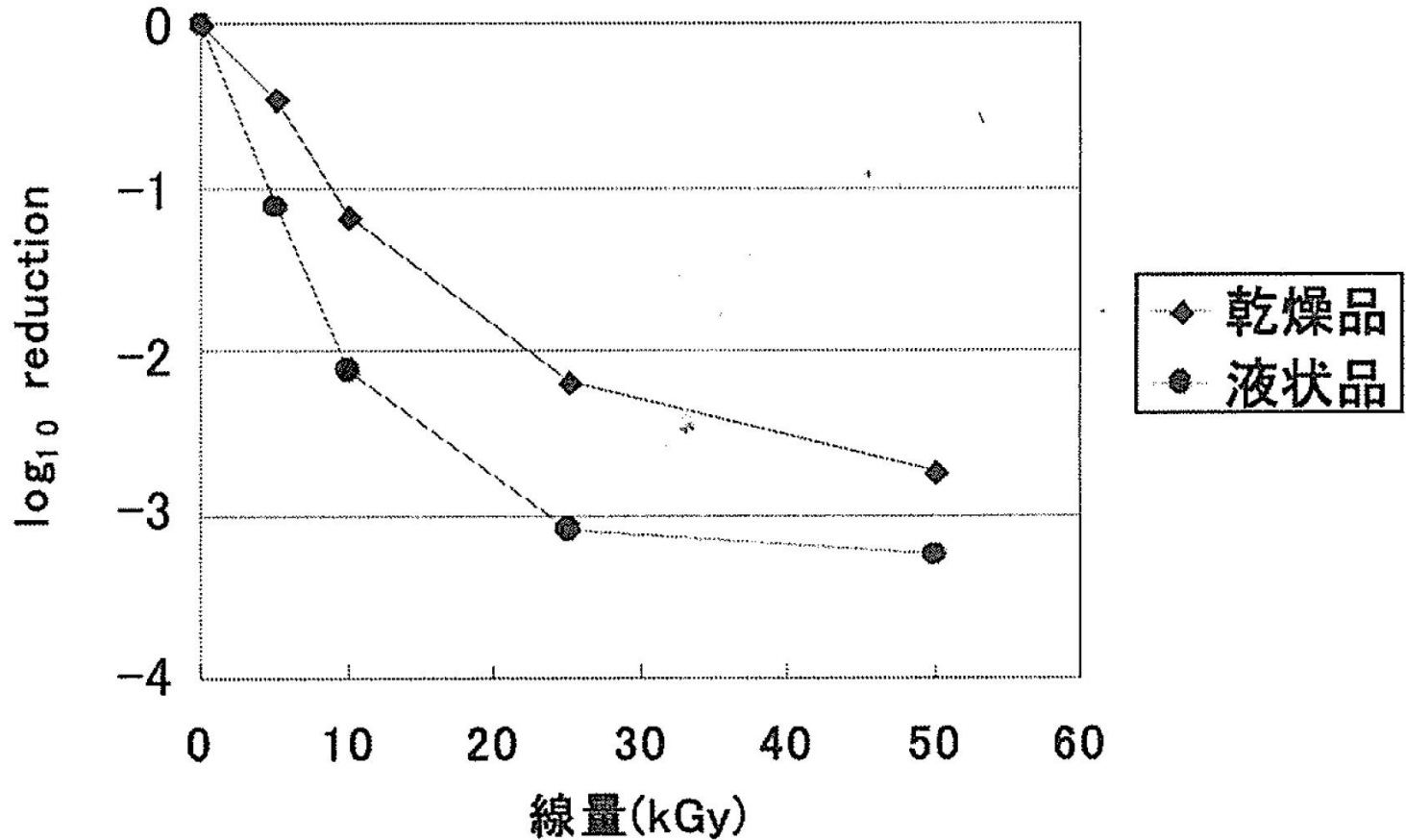


## ヒトパルボウイルス B19の不活化 (液状品)

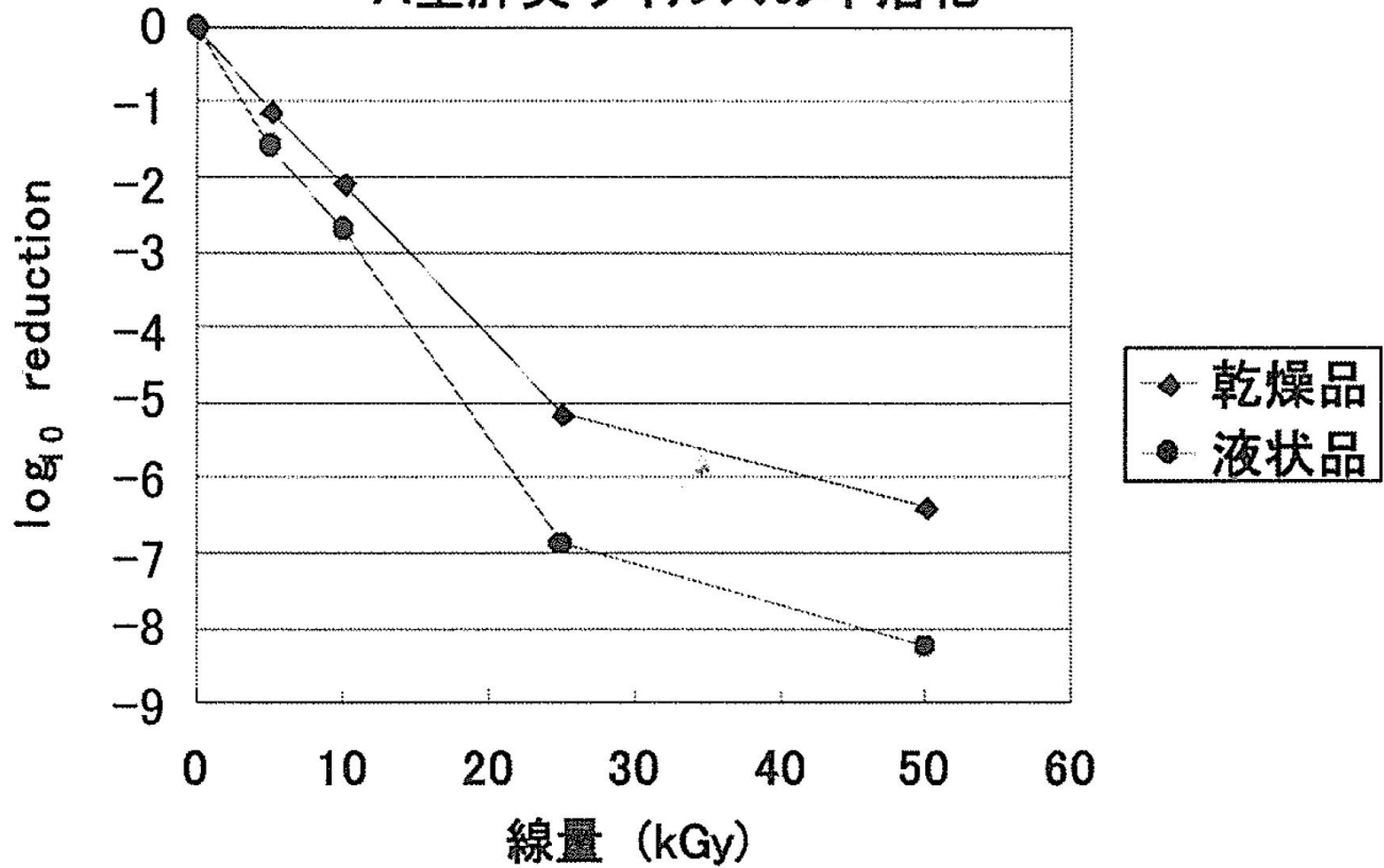




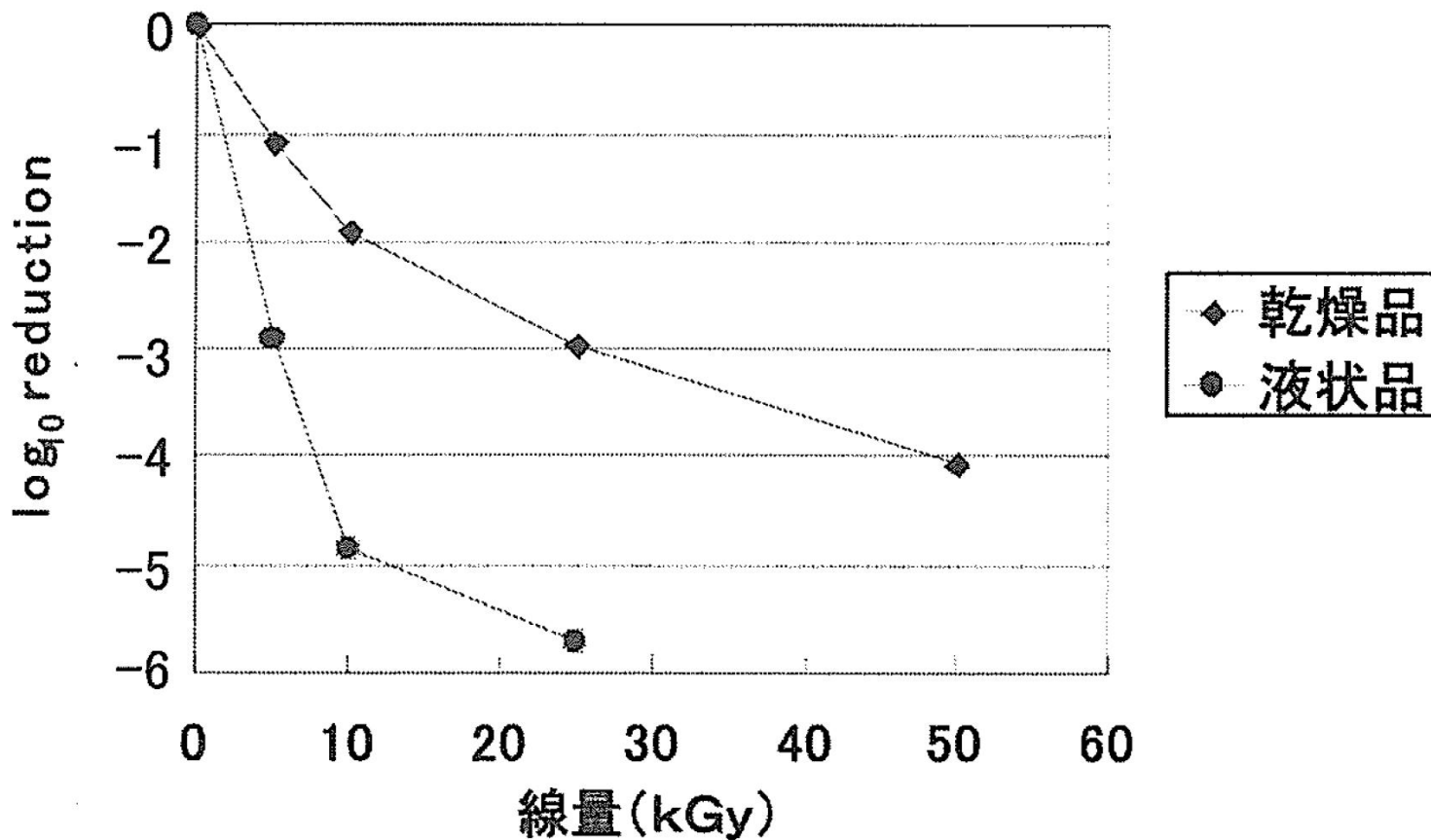
# イヌパルボウイルスの不活化



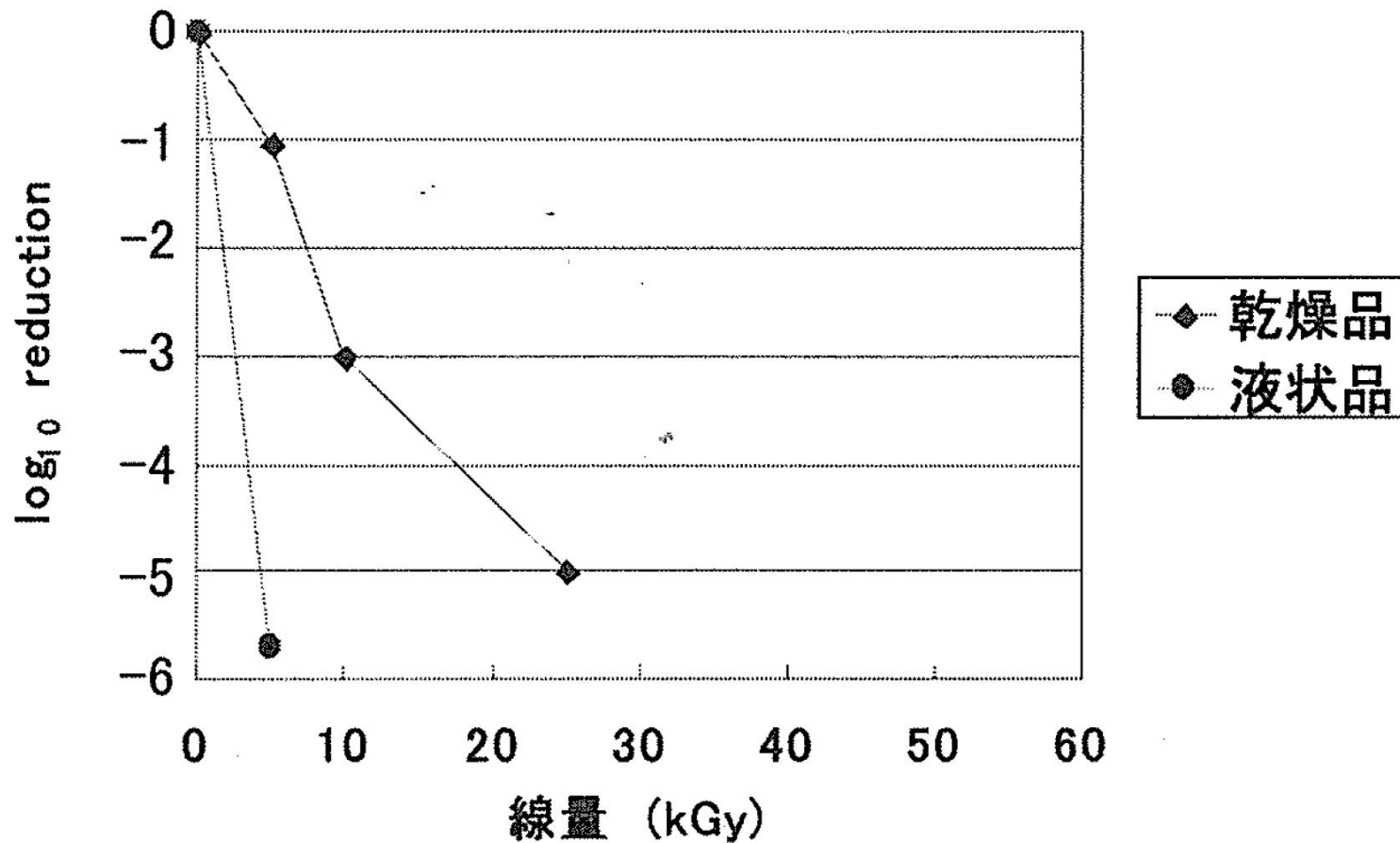
# A型肝炎ウイルスの不活化



# インフルエンザA型ウイルスの不活化



## ヘルペスウイルスの不活化



# γ線照射によるD<sub>10</sub>値の比較

ウイルス	乾燥品	凍結品	液状品
CPV(TCID <sub>50</sub> /ml) イヌパルボウイルス	11	7.9	4.5
HAV(FFU/ml) A型肝炎ウイルス	4.7	—	3.5
FluA(TCID <sub>50</sub> /ml) インフルエンザAウイルス	4.5	2.6	1.7
HSV(TCID <sub>50</sub> /ml) ヘルペスウイルス	5	—	0.9



# 線量選定方法について

- 原材料に応じた存在の可能性があるウイルスの種類と量の推定
- ウイルスの放射線抵抗性の測定と不活化レベルの設定
- 製品の許容線量の測定

以上を加味して不活化線量を設定する

# 7. 冷凍血清の照射例

- ドライアイス充填



- 冷凍コンテナでの保管

冷蔵品・冷凍品の処理が可能

冷凍庫

# まとめ

- 放射線によるウイルスの不活化は可能  
専門家に立会いただくことで不活化データ取得の試験照射も可能です
- 熱がかからず、冷凍したまま照射できるため、劣化を抑制しながらの不活化できる可能性有。
- 乾燥品では、放射線抵抗性の増大がみられるが、材質劣化を抑えた処理ができるため、最終製品での不活化も可能性がある。