

遺伝子組換え生物等の第二種使用等（※1）に関する事故について

平成28年2月26日（金）に、熊本大学大学院生命科学研究部において、遺伝子組換え生物等を取り扱う実験中に、遺伝子組換え生物等を含む実験廃液を不活性化（死滅させること）しないまま、廃棄してしまいました。

この遺伝子組換え生物等（レンチウイルスベクター（※2）以下「ウイルスベクター」という。）は、病原性と増殖性（細胞内でのウイルスの再生産）に関連する因子を完全に欠如しており、生物多様性やヒトへの影響はない安全なものですが、カルタヘナ法（※3）に基づく拡散防止措置を講じ、発生した実験廃液等については、不活性化処理を行った上で、廃棄しなければならないものでした。

熊本大学では事故発生後、廃棄したウイルスベクターを含む実験廃液の、学外への流出の有無を確認するために再現実験を実施し、生物の細胞内に侵入する活性をもつウイルスベクターの、公共下水中への流出がなかったと考えられる結果を得ました。

このような事態は決してあってはならないことであり、地域・社会の皆様に深くお詫び申し上げますとともに、二度とこのようなことを起こさないよう、再発防止策を講じます。

1. 事故の経緯と概要

平成28年2月26日（金）午後4時30分過ぎに、熊本大学本荘地区の熊本大学大学院生命科学研究部の研究室において、遺伝子治療（※4）に関する開発研究を目的として、ウイルスベクターを作製する実験を行いました。このベクターは細胞が生存するために重要な役割を担う、BCL2というタンパク質を作る遺伝子を発現させるものでした。この実験において、ウイルスベクターを含む溶液から超遠心分離操作（※5）を行って、ウイルスベクターを精製するという作業が終了した後、微量のウイルスベクターを含む可能性のある上澄み液約50 mLを、次亜塩素酸ナトリウム溶液（※6）の添加による不活性化処理の前に、誤って実験用の流しに廃棄する、という事故が発生しました。

2. 熊本大学における対応

事故に気付いて直ちに（事故発生から約60分経過後）、流しに約3.6Lの次亜塩素酸ナトリウム溶液を投入するなどの対応を行いました

た。その後、事故直後の排水経路の状況を調査した結果、流出した溶液の多くは排水管中において、事故発生から約45分後より流しに流入した水道水等により60～100倍程度に希釈され、事故発生から約50分後に実験施設地下に設置されている実験用廃液貯留槽へ、到達したものと考えられました。実験廃液貯留槽の容量は、約13トンであり、計算上、流出した溶液は廃液貯留槽内において20万倍以上に希釈されました。流出溶液は、希釈された状態で貯留槽内に一時的に滞留した後、徐々に下水道へ排出されたものと結論づけられました。

本件発生後に、事故発生時と同一の条件において超遠心分離の操作を行い、流出した上澄み液中に、どの程度のウイルスベクターの残存があったのか、実験的に検討しました。この再現実験においては、上澄み液中には作製されたウイルスベクターの、約5%の遺伝子導入活性が検出されました。その結果、上澄み液には作成されたウイルスベクターの、約5%が残存していたと考えられます。

ウイルスベクターを水道水で希釈した場合にどの程度遺伝子導入活性が保持されるかについても、事後に実験的な検討を行いました。その結果、ウイルスベクターを含む溶液を水道水で100倍に希釈した場合、60分後にはウイルスベクターの遺伝子導入活性が、失われることが判明しました。

3. 今回の事故の影響

今回廃棄してしまったウイルスベクターは、病原性と増殖性に関連する因子を完全に欠如しており、さらに上記の排水路の調査結果及び検証実験の結果から、以下のように結論づけることができ、生物多様性及びヒトへの影響はないと判断されます。

- 1) 再現実験の結果から、流しに流出した超遠心分離上澄み液には、作製されたウイルスベクターの約5%が、残存していた可能性があります。
- 2) ウイルスベクターが、施設内の実験廃液貯留槽まで到達した可能性は否定できません。しかしながら廃棄された溶液は、実験用の流しから排水管を経由して実験廃液貯留槽内に至るまでの過程において、排水管に流れ込んだ水道水等によって20万倍以上に希釈されるとともに、事故発生後に投入された約3.6Lの次亜塩素酸ナトリウムにより不活性化されたと考えられます。調査の結果判明した時間経過を勘案すると、滞留している間に細胞内に侵入可能なウイルスベクターは消失しており、公共下水中には遺伝子導入能力のあるウイルスベクターは、流出していないと考えられます。

4. 事故の原因

本事故は、実験上の作業手順に不適切な点があったこと（次亜塩素酸ナトリウム処理を行っていない溶液を安全キャビネット（※7）内で保管していた）、さらに、実験責任者による実験従事者への情報伝達が不十分であったこと（溶液を廃棄した実験従事者に対して、ウイルスベクターを含む可能性のある溶液であるという情報が伝わっていなかった）に起因します。

5. 事故後に判明した不適切な取扱い

事故を起こした研究室では、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加してウイルスベクターを不活性化する作業を、カルタヘナ法及び関連法令で定められたP2レベル実験室（※8）ではない、P1レベル実験室で行っていました。また、超遠心分離装置が設置されている部屋もP1レベル実験室でした。事故後、学内でウイルスベクターを使用している、もしくは使用する予定のあるすべての研究室（23研究室）の実態調査を行い、本事故が発生した研究室以外の別の1研究室で、超遠心操作をP1レベル実験室で行ったことが判明しましたが、それ以外の研究室については不適切な使用はないことを確認しました。本来P2レベル実験室で行わなければならないこれらの操作のうち、次亜塩素酸ナトリウム処理においては、操作中に溶液が容器の外に飛び散るなどの事例、超遠心操作においては、遠心チューブの破損や液漏れなどの事例は、無かったことを確認しました。

6. 再発防止策

今回事故を起こした研究室には、次亜塩素酸ナトリウム処理については、P2レベル実験室で行うよう強く指導しました。また、超遠心操作については、今後はP2レベル実験室において行うよう、事故を起こした研究室及び同様の実験を実施している、すべての研究室に周知徹底しました。

さらに再発防止策として、遺伝子組換え実験への従事の有無にかかわらず、遺伝子組換え実験を行う分野の実験従事者全員に対して、遺伝子組換え実験に関する教育訓練を実施することとしました。また、本件を発生させた研究室に対しては、安全性を高めるための多重の安全対策を講じるよう強く指導した上で、安全性が十分に確保されたと判断できるまで、ウイルスベクターを含む微生物を使用する、P2レベルの遺伝子組換え実験の停止を命じることにしました。

（語句の説明）

※1 遺伝子組換え生物等の第二種使用等・・・「施設、設備その他の構造物の外の大気、水または土壌中への遺伝子組換え生物等の拡散を防止する意図を持って行う使用等」を言います。（例：実験室内での実験など）

- ※ 2 レンチウイルスベクター・・・HIV-1ウイルスに由来していますが、通常のウイルスとは異なり、基礎医学研究あるいは遺伝子治療などの医療用途で使用することを目的とし、ウイルス内に封じ込められた遺伝子を細胞内に送り届ける（ベクター）機能を持ち、安全性に対する徹底的な配慮のもとに開発されたものです。
- 具体的には、このウイルスベクターは、病原性と増殖性（細胞内でのウイルスの再生産）に関連する因子を完全に欠如しています。
- ※ 3 カルタヘナ法・・・「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」のことで、この法律では、遺伝子組換え生物等を含む廃棄物（実験廃液等）を施設外に移送・廃棄する場合には、あらかじめ不活性化処理を行うことによって、拡散防止措置を講ずることと規定されています。
- ※ 4 遺伝子治療・・・本研究では、がん細胞を攻撃する性質を有する血液細胞を血液より分離して、この細胞にBCL2遺伝子と別の複数の遺伝子を、それぞれ個別のウイルスベクターにより導入します。このような方法により、血液細胞をある程度の数まで増やすことができます。この増えた血液細胞を、がんの治療に利用できるかどうか検討します。
- ※ 5 超遠心分離・・・溶液中に含まれるウイルスベクターを精製する目的で、超遠心分離装置を用いてウイルスベクターを沈殿させる操作を実施していました。本件では、50,000 G(重力の5万倍)2時間の条件で超遠心分離操作が行われていました。
- ※ 6 次亜塩素酸ナトリウム・・・漂白剤、殺菌剤、消毒剤などとして、一般家庭でも広く用いられている薬剤です。
- ウイルス（本件のレンチウイルスベクターも含む）や細菌など様々な微生物に対して滅菌効果があります。水道水の消毒や下水処理場における浄化処理にも使用されています。
- ※ 7 安全キャビネット・・・ウイルス等を安全に取り扱うことのできる装置。ヘパフィルターという特殊なフィルターで微

生物等を完全に除去したきれいな空気が、上から作業空間に吹き下ろすようになっています。また装置の中は陰圧（外よりも低い圧力）に設定されていて、作業空間で使用している遺伝子組換え生物等が、外に出ないようにになっています。

- ※ 8 P2レベル実験室・・・カルタヘナ法及び関連法令では、遺伝子組換え生物等をその危険度に応じた適切な取扱いを行うために、P1レベルからP3レベルまでの物理的封じ込めレベルを設定しています。P1レベル実験室は通常の生物学実験室ですが、P2レベル実験室には安全キャビネットという特殊な装置の設置等が義務付けられています。

お問い合わせ
熊本大学生命科学系事務ユニット
096-373-5662