

特集

新型コロナウイルス感染症について臨床検査の専門家の立場から

金原 正昭・七條 茂樹・福應 温・大隈 雅紀

純真学園大学 大学院 保健医療学研究科 保健衛生学専攻
保健医療学部 検査科学科

From the viewpoints of clinical laboratory experts on covid19

Masaaki KANAHARA, Shigeki SHICHIJO, Atsushi FUKUOH, Masanori OHKUMA

Course of Health Sciences, Graduate school of Health Sciences
Department of Medical Laboratory Science, Faculty of Health Sciences,
JUNSHIN GAKUEN University

【要旨】 新型コロナウイルス感染症が日本国内を言うに及ばず世界各国で爆発的な勢いで広がっている。本稿ではこれを踏まえ、臨床検査に携わる専門家4人（金原 正昭・七條 茂樹・福應 温・大隈 雅紀）で、特に診断のための臨床検査技術と細菌学的立場より感染予防について意見と今後の展望について論じる。

キーワード： 新型コロナウイルス感染症、臨床検査

§1：－総論－

金原 正昭

はじめに：

新型コロナウイルスが2019年末に中国の武漢を発症地とし瞬く間に世界各地に広がっていった。このことより新型コロナウイルスによる感染症を Corona virus disease (COVID-19) と呼ぶ。感染方法としては飛沫感染・接触感染・エアロゾル感染とされている。そもそもウイルスとは細菌の100分の1程度（数十 nm ～数百 nm）の大きさで、独自の細胞を持たない。ウイルスの増殖の仕方は独特で、他の生物の細胞には入り込むことで、即ちある意味寄生することで存在を可能にしている。動物例えばヒトの体にウイルスが侵入すると、ヒトの細胞の中に入ってその構成成分を材料として自身のコピーを作り、宿主細胞が破壊されそこから増殖したウイルスが放出され、次々と他の細胞に侵入・感染する。これがウイルスの増殖方法である。COVID-19はゲノム的には1本鎖 RNA ウイルスであり、mRNA として働くことが可能な＋鎖 RNA をゲノムとする RNA ウイルスである。自身のゲノム RNA（＋鎖）といっしょに逆転写酵素を宿主細胞に送り込み、自身の RNA から DNA を合成し、細胞核の中のヒト DNA に潜り込ませる逆転写を行うタイプのウイルスでありレトロウイルスと呼ばれる。レトロウイルスは天然痘などの複製ミスを修正する機能を有する DNA ウイルスとは異なり、容易にゲノムが変化する特徴を有しこのことが新型コロナウイルスワクチンが作られても効果を期待できるか否か不明な所以である。そこで、遺伝子を使う「DNA ワクチン」や「RNA ワクチン」、遺伝子を組み換えたタンパク質を使う「組み換えタンパク質ワクチン」の研究開発が盛んである。ウイルスの遺伝情報の一部を利用するメッセンジャー RNA (mRNA) を利用したワクチンは RNA ワクチンの一つである。mRNA には多様なタンパク質をつくるための遺伝情報を伝達する役割がある。モデルナが開発したワクチンに含まれる mRNA には、新型コロナウイルスが人に感染する際に使う「スパイクタンパク質」の一部をつくる情報が含まれ

令和3年2月19日

純真学園大学 保健医療学部 検査科学科 教授

ている。ワクチンを投与する人の細胞内にこのスパイクタンパク質をつくらせる。そして免疫システムにウイルスを認識させ、ウイルスが体内に侵入したときに攻撃させる。mRNA ワクチンはこれまで使用が承認されたことも量産されたこともなく前例のない試みである^{1) 2)}。

また、大きな特徴の一つとして抗生物質が無効であることがあげられる。この性質が新型コロナウイルスに限らずウイルスの治療を困難にしている。令和2年6月末日時点では有効な治療薬、ワクチンはなく対症療法が中心である。その中で、若年者でも重症化する報告があるサイトカインストームは症状の一つであるが、これはマクロファージ（大食細胞）から生じた大量のサイトカインが自己組織に攻撃を加えることで引き起こされる。血管内皮にサイトカインが攻撃を加えればプラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター1（PAI-1）が放出され線維素溶解（線溶）が抑制され結果として血栓が形成されることが知られている。大阪大や中外製薬（大阪市）が開発したりウマチ薬「アクテムラ」は、過剰に放出された炎症物質の働きを抑える作用があり血栓形成を抑制する働きが期待される。また、新型インフルエンザに対し承認されている富士フィルム富山化学（東京都）の「アビガン」は遺伝情報の複製という根幹の仕組みはウイルス間で違いがほとんどなく、他のウイルスを狙う薬でも効果が期待できるというものである³⁾。

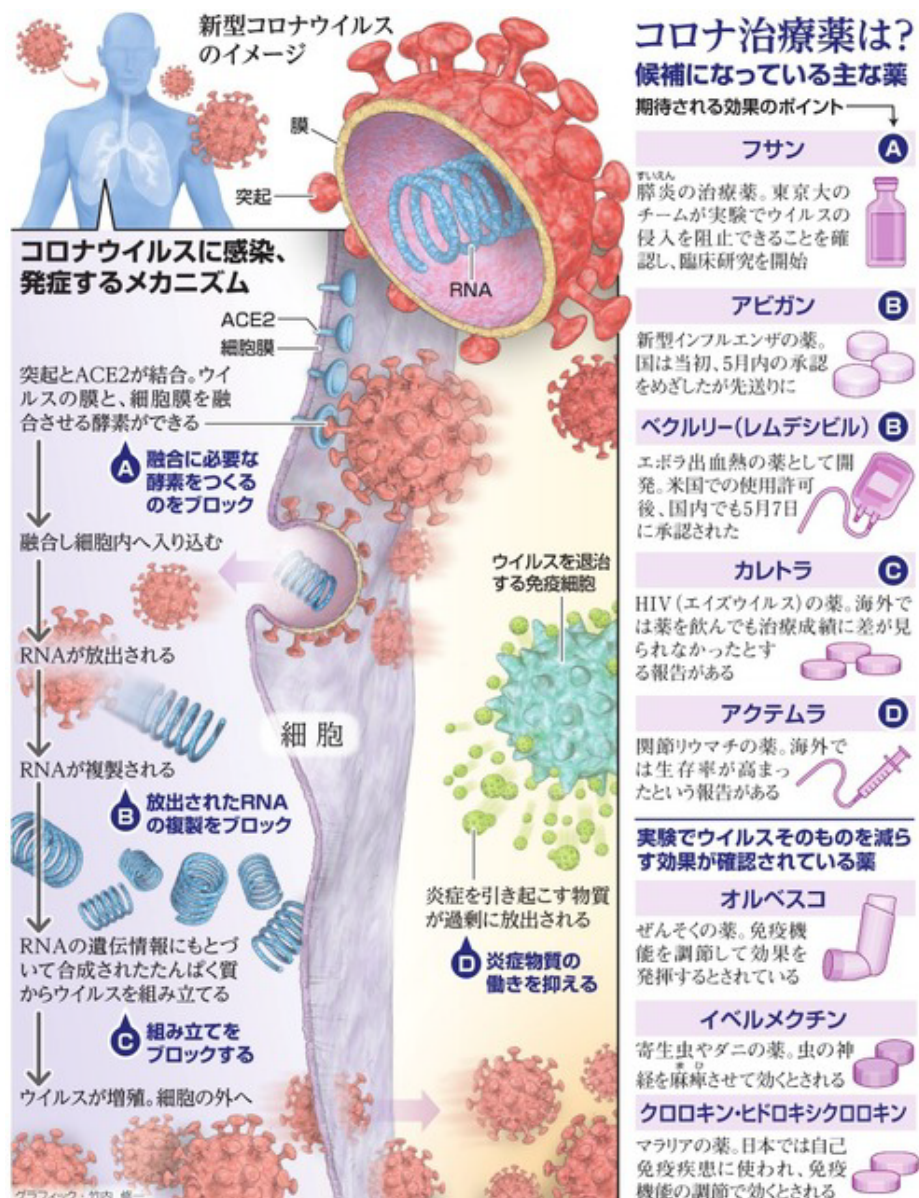


図1

1. 診断検査

PCR 検査、抗原検査、抗体検査等が臨床現場として用いられる一般的検査法である

1) PCR 検査

PCR とは、Polymerase chain reaction（ポリメラーゼ連鎖反応）の略語である。PCR 検査は、ウイルス遺伝子の特徴的な一部分を切りだし連鎖反的に増幅させる検査である。ノーベル科学賞受賞者のキャリー・バンクス・マリス（Kary Banks Mullis）によって開発された検査方法でこれにより遺伝子検査が画期的に進歩した。検体中に新型コロナウイルスが存在すれば、特徴的な部分を検出し、その部分を切り取り増幅させることで、新型コロナウイルスがいるかどうか判断できる検査である。迅速 IgM-IgG 結合抗体テストの診断特性について、PCR 陽性が確認された COVID-19 患者 397 人と陰性患者 128 人を対象にした研究では、迅速 IgM-IgG 結合抗体テストは PCR 検査と比較して、感度（感染している人を調べ、陽性とする割合）89%、特異度（感染していない人を調べ、陰性とする割合）91% と報告している⁴⁾。このことは、感染していても 11% の人は陰性として見落とされ、感染していなくて 8% の人は誤陽性とされることがあるということである。

市中感染の程度を推定するのに下水の分析が欧米ではすでに行われている⁵⁾。日本でも新型コロナウイルスを検出し調べることで、ウイルス感染拡大の兆しをつかもうとする研究グループがウイルスの検出に成功し、感染拡大の第 2 波を事前に察知することが期待されている⁶⁾。具体的には下水処理場から、ウイルスの感染拡大がピークに近い時期に採取した下水を処理が行われる前に濃縮して PCR 検査にかけ検出している。

2) 抗原検査

抗原検査として代表的なものがインフルエンザの簡易検査がある。新型コロナウイルスの場合も鼻咽頭から検体を採取し、ウイルスに特有の物質と反応する試薬に検体を入れると短時間で結果は出る。この長所を生かし、迅速な対応が必要となる救急患者らへの活用が期待されている。ただ PCR 検査に比し検査時間は短いものの偽陽性、偽陰性が多く正確性は劣る⁷⁾。PCR 検査よりも正確性が劣るのであれば結局、PCR 検査を受けなければならないということになる。しかし厚生労働省は 6 月 16 日、抗原検査について、陰性の人に必要としてきた PCR 検査を不要すると発表した。発熱などの症状が出て 2～9 日目ならば、抗原検査だけで診断を確定できるようになった。これは PCR 検査を経て診断を確定することになっていたが、「二度手間」との指摘があったためである。

3) 抗体検査

抗体とはウイルス等が体内侵入時にウイルスを体内から排除するために身体が作り出すタンパク質である。抗原抗体反応によりウイルスと結合しウイルスを除去する。通常ウイルス等抗原が体内に侵入してから数日～数ヶ月で抗体が産生される。抗体を産生することで、再度同じウイルスが侵入した場合抗体がウイルスを除去する。抗体検査の意義は陽性の場合、過去に同じウイルスに罹患したこととの証拠となる。米国では 5 月中旬の時点で被検者の 4.31% が陽性であった⁸⁾。このことは報告されている感染者の数倍に当たる。つまり、不顕性感染がかなり存在するということである。日本でも陽性率は異なるが同様の報告がある⁹⁾。抗体検査は新型コロナウイルスに罹患し抗体が産生されれば理論的には検出率 100% になる。即ち正確度は 100% ということである。厚生労働省は 6 月 16 日、陽性率が東京 0.10%、大阪 0.17%、宮城 0.03% だったと発表した。日本国内では多くの人が抗体をもっていないとみて、「第 2 波」に向けた対策の必要性が指摘されている¹⁰⁾。海外で報告されている抗体検査の陽性率は米ニューヨーク州で 12%、スペインで 5% など。欧米に比べ、日本は流行の規模が小さかったとされるが、抗体検査からもその傾向が示されたとされている。日本の感染者が少ない理由は、衛生意識の高さや、日本独自のクラスター（感染者集団）への対策など、さまざまな説があるが、確立したものはなく、抗体がある場合でもどれ

ぐらい持続するのか、本当に感染を防げるのか、不明である。従って、対策はゆるめられないとされている¹¹⁾。

2. 感染予防

臨床検査の立場からの感染予防については感染対策チーム（Infection Control Team：ICT）ICTは病院内で起こるさまざまな感染症から患者・家族、職員の安全を守るために活動を行う組織である。医師、看護師、薬剤師、臨床検査技師、診療放射線技師、栄養士などさまざまな職種が集まり、それぞれの職域の専門性を生かし病院全体の感染対策活動に従事するものである。一般的には月に1回の会議で、感染対策に関する報告や施策協議を実施している。本来ICTは新型コロナウイルス等ウイルスを直接の対象としているわけではないが、基本的な対応技術は共通であるので病院内での感染抑制・防止に寄与すると考えられる。

§2：－免疫学的視点からの新型コロナウイルス感染症－

七條 茂樹

序論：

2020年11月末時点で、感染者は、世界で62,677,879名、日本で144,653名となっている。そのうち死亡者は世界で1,458,587名、日本で2,106名と、まだ勢いは治まる気配がない。報告されたCOVID-19感染の総数は、検出されない軽度または無症候性の症例が多くあるため、過小評価されていると疑われる。ダイヤモンドプリンセス号のケーススタディから、無症候性症例の17.9%の推定が報告された。無症候性の個人は、症候性の個人と同じくらい感染性があり、したがって、病気をさらに広げることができる。本稿では、免疫学の立場から、新型コロナ感染症について概説する。

1. 感染による免疫への影響：

末梢血の検査では、感染により82.1%のリンパ球の減少症、36.2%の血小板の減少症、33.7%の白血球減少症が観察されている^{12) 13)}。

2. 診断のための免疫学的検査の現状：

免疫学的検査法に関しては、2020年4抗原検査キットの薬事申請が行われ、同年5月に我が国で初めて承認された（抗原定性検査）。6月には、新たな新型コロナウイルス抗原検出用キットの薬事承認が得られ、6月から保険適用となった。このキットは、専用の測定機器を用いることにより、従来の抗原定性検査よりも感度が高く、抗原の定量的な測定が可能なことから、PCR検査と同様に、鼻咽頭ぬぐい液による検査は確定診断に用いることが可能である。また、唾液による検査は、7月より、PCR検査と同様、唾液を用いた検査が活用できるようになった。

一方、抗体検査については、現在、イムノクロマト法をはじめ、国内で様々な抗体検査キットが研究用試薬として市場に流通しているが、現在、体外診断用医薬品として承認を得た抗体検査キットはない¹⁴⁾。

1) 自然免疫

① SARS-CoV-2による宿主IFN産生抑制

感染はIL-6や腫瘍壊死因子（TNF）などの炎症誘発性サイトカインの過剰産生につながる可能性がある¹⁵⁾が、主要な抗ウイルス性メディエーターであるI型IFNの産生は減少している¹⁶⁾。また、若年者では軽症あるいは無症状が多いのに対し、高齢者や基礎疾患がある場合は重症化しやすいという特徴があ

る。肺では、I型およびII型の肺胞上皮細胞、肺胞マクロファージに感染し、炎症性サイトカインが作られる。IFNは、IFNARシグナルを介して、ウイルスの複製と拡散を制限するために重要である。しかし、病原性インフルエンザウイルス感染とは対照的で、重度のCOVID-19患者の末梢血または肺でのIFN産生は低レベルであった¹⁷⁾。興味深いことに、低レベルの全身性IFN産生は重度のCOVID-19と関連しているように見えるが、IFNおよびIFN刺激遺伝子(ISG)の局所誘導は、一部の重症の気管支肺胞洗浄(BAL)で顕著であった¹⁸⁾。これは、肺に存在している樹状細胞(DC)などの特殊な免疫細胞の活性化によることが示された¹⁹⁾。

② NK細胞

ナチュラルキラー(NK)細胞などの他の自然免疫細胞も、コロナウイルス感染時にIFNによって制御される。IFNARシグナル伝達の阻害は、ウイルス感染細胞の早期クリアランスを弱める可能性があり、MERS-CoV感染マウスの肺におけるNK細胞の蓄積を抑制したことが報告されている²⁰⁾。重度のCOVID-19の患者はNK細胞の深刻な枯渇と機能的消耗を示したが、このNK細胞の機能不全がIFN応答の調節不全が原因であるかどうかは不明である。

③ SARS-CoVによって誘発されるIL-6とTNF- α

ACE2がSARS-CoV感染の機能的受容体として機能し、ヒト末梢単球およびマクロファージがSARS-CoVに感染する可能性がある^{21) 22)}。また、SARS-CoVによって誘発されるIL-6とTNF- α がSARSの病因、特に炎症と高熱に関して役割を果たすことが示唆された²³⁾。同様に、SARS-CoV-2受容体も、SARS-CoVと同じくACE2であることが明らかになった^{24) 25)}。さらに感染にはセリンプロテアーゼTMPRSS2によりウイルスのスパイク蛋白が処理されることが必要であるとの報告がある²³⁾。

④ サイトカインストーム

COVID-19はサイトカインストームによって引き起こされるARDS(急性呼吸器不全)であり、抗IL-6受容体抗体で治療できる可能性が提唱された。サイトカインストームでは、G-CSF、IP-10、MCP-1、MIP-1 α およびTNF- α の濃度が高いことが、疾患の重症度と関連している可能性が示唆された²⁶⁾。また、血清中のインターロイキンIL-2RとIL-6の発現増加が、COVID-19患者の重症度と予後を予測できる可能性が示唆された²⁷⁾。さらに、死亡した患者からの生検サンプルの病理学的検査により、リンパ球が優勢な両肺の間質性単核炎症性浸潤が明らかにされ、T細胞の過剰活性化が、この患者の重篤な免疫損傷の原因の1つであることが示された。

⑤ サイトカインストームに対する対応

メチルプレドニゾロンによるサイトカインストームの治療により、ARDSの患者の死亡リスク(ハザード比0.38, 95%信頼区間0.20-0.72)が減少することから、重症の症例(特にARDSの患者)では有益であると考えられている^{28) 29) 30)}。また、クロロキンとヒドロキシクロロキンは、Toll-like受容体シグナル伝達とIFN遺伝子のcGAS刺激を介して、MHCクラスIIの発現、抗原提示、免疫活性化を阻害すると報告されている³¹⁾。したがって、クロロキンとヒドロキシクロロキンは、サイトカインストームに関与するIL-1、IL-6、IFN- α 、TNFなどのさまざまな炎症誘発性サイトカインの産生を減少させることができる。これらの免疫調節効果は、COVID-19の治療における抗ウイルス効果と相乗効果をもたらす可能性がある。さらに、IL-6をブロックする特定のモノクローナル抗体であるトシリズマブは、両側肺に広範な病変があり、新規コロナウイルス肺炎の診断と治療プロトコルでIL-6レベルが確認されている重症または重症患者での使用が推奨されている³²⁾。COVID-19の重症20例を遡及的に分析したところ、トシリズマブ治療により、発熱と肺病変の混濁が軽減し、末梢血中のリンパ球の割合が回復したこ

とが示された³³⁾。

2) 獲得免疫

① 免疫担当細胞

重度の COVID-19 感染は、リンパ球減少症および CD4+ および CD8+ T 細胞の機能抑制として現れる T 細胞反応の障害に関連している³⁴⁾。IFN 産生の欠陥が T 細胞応答が損なわれる原因である可能性が考えられている。MERS-CoV 感染時の IFNAR シグナル伝達の遮断は、マウスのウイルス特異的 CD4+ および CD8+ T 細胞の発生を抑制した³⁵⁾。確かに、COVID-19 患者の調節性 T (Treg) 細胞数は、疾患の重症度と逆相関することが示されている³⁶⁾。

② ワクチンの開発

(能動免疫) SARS-CoV-2 は RNA ウイルスで、変異速度が速いため、ワクチンの開発は困難を伴うと考えられていた。そのような中、RNA ワクチンがファイザー、モデルナ社により実用化された。ワクチン開発は、通常早くても数年かかるが、驚異的な速さである。しかも有効率が 90~95% とのことで、注目に値する。症例数はいずれも 3 万人強で、副反応に関しては承認されたとしても市販後調査などで注意深く見ていかなければならないものの、いずれも二重盲検試験の結果なので有効性は期待できるが、問題は残る。例えば、横浜市立大学などの研究グループは、新型コロナウイルスに感染しその後、回復した人を調査した結果、98% の人は半年後も感染を防ぐ抗体が体内に残っていることがわかったと発表した。数か月間持続するという研究がある一方、数か月で減ってしまうとする研究も出されていて結論は出ていない。

(受動免疫) 米国大統領が 10 月「予防措置として、リジェネロン社のポリクローナル抗体 8 グラムの投与を受けた」との報道があった。リジェネロンの治療薬は 2 つの抗体で構成される「抗体カクテル」で、それらはヒトの免疫系を持つように遺伝子操作されたマウスと、新型コロナウイルス感染症から回復した患者の両方から数千の候補をスクリーニングした結果、同定されたものという。しかしながら、学術論文として発表された情報でないため、詳細は不明である。感染者由来の抗体を用いた研究は、8 月に中国の研究者らにより報告がある³⁷⁾。すなわち、中国で最大 2000 サンプルの CCP が収集され、700 人の COVID-19 患者に投与されその結果、未治療の症例と比較して臨床結果の統計的に有意な改善を示した ($P < 0.001$)。副作用は報告されていない。しかし、CCP の有効性および潜在的な悪影響をさらに評価するために、よく設計された RCT または他の正式な研究が必要と考えられる。

3. 抗体依存性強化 (ADE) :

適応免疫応答は感染に対する生体防御の極めて重要な要素であるが、ときに非感染性の物質により誘発されて、これが疾患を引き起こす。ADE は、さまざまな微生物や脊椎動物が関与する疾患の悪化を媒介する感染性 IgG 抗体免疫複合体が関与する現象である。ADE は、FcR を持つ細胞における微生物感染の IgG 免疫複合体の強化で、免疫複合体が直接細胞毒性ではないが、細胞内微生物感染の生産性を調節することにより疾患の重症度を高める働きをする。ADE 現象の初期の *in vitro* 報告はホークスによるもので、MVEV に感染したニワトリ胚線維芽細胞単層に、ウイルスのみの対照よりも高濃度のニワトリ抗血清でブレインキュベートしたプラークの数が多いことが観察された³⁸⁾。

4. 軽度 / 中等度および重篤な疾患を区別するための予測マーカー :

限られた医療資源を有効に利用するためには、新型コロナ感染者の場合、重症肺炎の発症を予測することが重要であり、このためのマーカーとして Sugiyama M らは CCL17 を見出した³⁹⁾。すなわち CCL17

は、SARS-CoV-2感染の初期段階で減少することを報告している。さらに、IFN- λ 3, IL-6, CXCL9も、患者が重度の肺炎を発症する前に有意な変化を示すことを示唆している。

略語：インターロイキン（IL）；顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）；インターフェロン γ 誘発タンパク質10（IP-10）；単球走化性タンパク質1（MCP-1）；炎症性タンパク質1 α （MIP-1 α ）；腫瘍壊死因子 α （TNF- α ）；IFN受容体（IFNAR）；急性呼吸窮迫症候群（ARDS）；主要組織適合性複合体（MHC）；回復期血漿（CCP）；無作為化比較試験（RCT）；抗体依存性増強（ADE）；Fc受容体（FcR）；マレーバレー脳炎ウイルス（MVEV）

§3：- PCR 検査（核酸検出検査）- 福應 温

はじめに

2019年12月に中華人民共和国湖北省武漢市において発生した新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は1年を経過した2020年12月25日までに、世界各国で感染者（検査陽性者）数は8812万人、死亡者が177万人を超え感染拡大が収まる気配を見せない。その原因ウイルスは当初2019-nCoVと呼ばれていたが、2020年2月WHOによりSARS-CoV-2と命名された。このRNAウイルスについてはブラジル発祥の変異株VOC-202012/01がイギリスにおいて広がりを見せているように既にいくつもの亜種が報告されている。本邦においても2020年1月28日に指定感染症として定められており、2020年12月31日までに23万人を超える感染者（検査陽性者）が確認され、死亡者は3414名となっている。COVID-19の診断に関わる検査としてはPCR法を中心とした核酸検出検査、抗原検査、抗体検査があるが、本稿では我が国における核酸検出検査の現状、そして核酸検出検査について注意すべき事柄について整理したい。

1. COVID-19の核酸検出検査

① 核酸検出検査の実施状況

核酸検出検査とはヒトが持たない核酸の配列をヒトから得られた検体から検出する検査で、特に病原体の検出を目的とした検査である。PCR検査を代表とする核酸検出検査は検出感度が高く、COVID-19についても中国疾病医療センターやWHOからの遺伝子配列情報によりパンデミック当初から広く実施され、国内では国立感染症研究所が確立したPCR検査法が2020年2月に「病原体検出マニュアル2019-nCoV」⁴⁰⁾として発表されて何度かの更新を経て現在に至っている。このマニュアルに基づく検出法はPCR法であり、COVID-19の核酸検出検査の主流となっている。COVID-19の検出検査は、3月6日からは行政検査として保険適用となり⁴¹⁾、2020年12月31日までにその検査数は485万件を超えている⁴²⁾。その後、何度かの改正があり、同等の検出感度が担保されたとされる種々の方法が保険収載となり現在に至っている。

② 定量的 RT-PCR 法

SARS-CoV2はRNAウイルスであり、ウイルス遺伝子の増幅のためには検体に含まれるRNAを鋳型とした逆転写反応（reverse transcription; RT）を行う必要がある。RTによって合成された相補的DNA（complementary DNA; cDNA）を鋳型としたリアルタイムPCRによりSARS-CoV-2を定量的に検出する（数コピーのSARS-CoV-2の検出が可能とされている）。国立感染症研究所が確立したPCR検査法は2通りあり、SARS-CoV-2の遺伝子領域2か所、open reading frame 1a（ORF1a）およびspike（S）を特異的に検出する定性的な2-step RT-PCR法、そしてSARS-CoV-2に特異的なTaqManプローブ（Nセット及びN2セット）を用いた定量的なリアルタイム one-step RT-PCR法である。前者は2-step RT-PCR法によって

得られた増幅 DNA 断片の塩基配列をシーケンス解析により決定することで結果判定を行うが、後者の検出感度が担保されるなら、その結果をもって判定して良いとされている⁴⁰⁾。

③ その他の核酸検査法

核酸検出検査に関して精度や汎用性のある検査方法を普及させる観点から、国立感染症研究所のマニュアルに基づく方法とメーカー等が提案する遺伝子検査法との比較が行われた。通常の検査方法（逆転写および遺伝子増幅が1時間以上かかるもの）として21種、迅速な検査方法（逆転写および遺伝子増幅が1時間未満のもの）として15種の検出試薬が比較され、いずれも同等の検出感度を示した⁴³⁾。PCR法の原理に基づかない方法としては Loopamp® 新型コロナウイルス2019 (SARS-CoV-2) 検出試薬キットや SmartAmp™ 2019新型コロナウイルス検出試薬などがあり、どちらも一定温度で増幅させることが可能な方法で、PCR法に必須の機器であるサーマルサイクラーを必要としない点に特徴があり、どちらも保険収載されている。

2. 核酸検出検査の注意点

① 検体の種類と採取と適切な検査の実施

COVID-19における検査がすべて行政検査として行われていた状況から、医師判断による検査キット等を利用した検査が行われるなど検査体制が多様化する状況の変化に対応することを目的として「新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針（第2版）」が公開されている⁴⁴⁾。COVID-19は指定感染症である為、病原体が検出された場合には検体採取時点における感染が確定される。ただし、ウイルス量が少ない例では検出限界以下（陰性）となることや、同一被検者でも経時的に排出ウイルス量が変化するため、適切なタイミングでの採取が必要である。検体の種類については主に鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液、唾液、痰などがあるが、適切な採取法とその後の保存については検出に大きく影響する為、国立感染症研究所によってマニュアルが示されている⁴⁵⁾。また、これまでの報告から核酸検出検査は発症2日前から発症後10日までに実施すべきであることがわかっている。ただし、唾液を使用する場合には発症前の検体からは検出が困難であるので注意が必要である。

② 検査の精度保証

COVID-19が広がり始めた当初、中国武漢市における報告⁴⁶⁾から SARS-CoV2の核酸検出検査の陽性率はおおよそ70%に過ぎず、偽陰性率が高いと言われていた。しかしながら、その後大規模な調査は行われていない為、実際の偽陰性率と偽陽性率は不明のままであり、早急な調査が必要であると考えられる。さらに、前述したように多くの機器や試薬が開発され、陽性、陰性の基準は異なっているはずである。しかしながら、これについても大規模で詳細な比較検討はなされていない。現在のように核酸検出検査実施施設が増加しており、多種多様な機器や試薬が使用されている中、検査の質の確保が喫緊の課題となっている。その為、精度管理に関して日本臨床検査医学会は重要な提言を随時行なっており⁴⁷⁾、十分な検出感度で検出できる機器と試薬、さらに一定の基準を満たした施設による検査体制の確立を求めている。日本政府は2020年12月15日に決定した補正予算の中で地域医療提供体制の維持・確保するための支援として、1兆9374億円を計上しているが、これにより精度管理が充分になされた検査体制が確立されることを期待したい。

③ 変異株への対応

SARS-CoV-2はRNAウイルスであり、RNAウイルスは一般的に変異速度が高いと考えられている。実際、2020年4月までの変異株の調査からは1年で25.9箇所の変異発生が見込まれている⁴⁸⁾。つまり、毎月2箇所以上の変異がランダムに生じることが示唆されているのである。実例として、2020年10月末ま

でに検出された SARS-CoV-2は、欧州系統の中心クラスターから分岐・派生した300を超えるクラスター系統から生き残った2つの系統に由来していたことがわかっている⁴⁹⁾。その特徴は Spike タンパク質の変異として知られる614番目のアスパラギン酸がグリシンに変異した Spike: D614G を持つことであり、その評価について、Nature 誌に概説が公開されている⁵⁰⁾。このような世界各地で検出された SARS-CoV-2変異株の情報は GISAID⁵¹⁾ に日々登録され公開されている。幸いなことに今のところ核酸検出検査やワクチンの効果に大きく影響する遺伝子領域の変異は見つかっていないと考えられているが、今後核酸検出検査を実施する場合には常に変異株の問題に注視する必要がある。

おわりに

本項では COVID-19の核酸検出検査について概説したが、情報は常に更新されているので、必要に応じて引用元等から情報を取得することをお勧めする。

本稿の最後にあたり、「核酸検出検査が陽性であるという事は検出に用いるプライマーと相補的な配列を持つ核酸が検体の中に存在することを示しているのみであり、検出された病原体が【病気の原因】であること証明しているわけではない」ということを改めて強調したい。

PCR 検査は検出感度が高く、犯罪捜査や出生前遺伝子診断などにも使われている非常に有用な検査法であるが、PCR の発明者である故キャリー・マリス博士は講演で繰り返し次のように述べている。「PCR 検査を感染症の診断に使ってはならない、使い方によっては誰でも犯人にすることができる」と。例えば、最近インフルエンザウイルスと新型コロナウイルスとが同時に検出された例が報告されたが、その例において発熱などの症状を引き起こしているのがどちらのウイルスであるかは核酸検出検査では区別できない。核酸検出検査の陰性判定が即座に SARS-CoV-2の感染を否定することができないのと同様に、陽性判定が得られた場合にも感染の診断においては、本来は臨床症状や他の検査の結果を踏まえて慎重に為されなければならないと考えられる。このような観点を踏まえ、COVID-19の核酸検出検査は保険診療上の臨床検査と、帰国者などのクラスター調査における検査において、明確に区別した医療（検査）体制を取るべきとの提言も行われている⁵²⁾。

§ 4：－臨床検査部門における感染対策－ 大隈 雅紀

2019年に発生した新型コロナウイルス感染症（COVID-19）⁵³⁾ は、SARS コロナウイルス2（SARS-CoV-2）がヒトに感染することによって発症する気道感染症である。多くの場合、無症状または風邪様症状を伴う軽症で自然治癒するが、重症では急性呼吸窮迫症候群や敗血症、多臓器不全を伴う⁵⁴⁾。日本においては、感染症法に基づいて強制入院などの措置を取ることができる指定感染症に指定された⁵⁵⁾。本稿では、新型コロナウイルス感染症の主な感染経路と臨床検査部門における感染対策について述べる。

1. 感染経路

新型コロナウイルスの感染経路は、飛沫感染・接触感染・空気感染の可能性が指摘されている⁵⁶⁾。

(1) 飛沫感染

主な感染経路は飛沫感染である。飛沫（droplet）は水分を多く含む粒径 $5\mu\text{m}$ 以上の微粒子を指す。飛沫は呼吸、発声、咳やくしゃみの際に鼻や口から放出された後、放物線を描くように正面に飛び、比較的短時間で地面に落ちる。飛散する距離は通常1～2m 以内とされているが、声量や気流などの条件次第で、より長い距離を飛ぶこともある。

(2) 接触感染

ウイルスで汚染された手指で眼や鼻、口に触れることにより粘膜から感染する経路である。これまで

様々な材質表面上におけるウイルスの生存時間を調べる実験が行われている。その結果、ステンレスやプラスチックなどの凹凸のない材質表面では、ウイルス量は漸減するものの、数日間残存することが判明している^{57) 58)}。人が多く集まった場所では、環境やモノの表面がウイルスにより汚染される可能性が高いと考えられる。

(3) 空気感染

これまでのところ空気感染するとは考えられていない。しかし、大勢の人が集まり換気の悪い空間(3密空間)において、感染者から飛散するエアゾルあるいはマイクロ飛沫などと呼ばれるウイルスを含む微粒子を吸い込むことで感染する可能性が指摘されている。

以下に日本臨床検査医学会新型コロナウイルスに関するアドホック委員会の「日常検査体制の基本的考え方の提言」を記す⁵⁹⁾。

2. 臨床検査部門における感染対策

(1) 検体を取り扱う検査と、(2) 生理機能検査での基本的な考え方を示す。以下の考え方を実施していくには、新型コロナウイルス核酸の陽性を疑う、あるいは陽性が判明している患者では、直接患者の状態を把握している臨床医を中心とした医療者と、検査部門の情報共有が必須である。

(1) 検体を取り扱う検査

新型コロナウイルスの感染経路として、呼吸器を介した経路と便の可能性が指摘されている⁶⁰⁾。臨床検査で取り扱う呼吸器系材料(上気道ぬぐい液、喀痰、気管支肺胞洗浄液など)では、微生物検査、病理学的検査、フローサイトメトリー検査、病原体核酸検査などを行うことが想定される。便では、微生物検査、一般検査、病原体核酸検査などを行うことが想定される。一方、その他の材料からの感染経路を支持するエビデンスはなく、普段からの曝露リスクを再認識して取り扱う^{61) 62)}。

1) 新型コロナウイルスの陽性を疑う、あるいは陽性が判明している患者由来の検体検査

- ① 血液、尿など：通常通りの取り扱い*ができる。
- ② 呼吸器系材料・便：ウイルス曝露リスクが高い操作**までを、バイオセーフティレベル2以上の検査室の安全キャビネット内で取り扱い、操作中は個人防護具を着用する。

2) その他の患者由来の検体検査(新型コロナウイルスに限らず感染性物質曝露のリスクがある)

- ① 血液、尿など：通常通りの取り扱い*ができる。
- ② 呼吸器系材料・便：通常通りの取り扱い*ができる。

* 想定される検体の取り扱いは、検体容器を開けずに検査できる自動搬送システム、自動分注機または自動検査装置を扱う場面である。検査を行う場所は一般の臨床検査室であり、検査者(臨床検査技師)は検査以外に感染防御に関する教育及び訓練を終了し業務可能と評価(許可)された者である。日常的に使用すべき個人防護具は、原則、ガウン、サージカルマスク、フェイスシールド(ゴーグル)、手袋である。フェイスシールドまたはゴーグルは、検体の飛散が想定される作業または場所では、眼への防護策として使用する。検体容器の蓋を開ける、または検体を分注する操作は、エアロゾルが発生する作業であり、個人防護具の使用を徹底する。

** 想定される操作は具体的には、検体の遠心・攪拌・希釈・分注などの操作、呼吸器ウイルスなどの抗原検査での反応液添加までの操作、微生物検査用の培地への接種、スメアの化学的または熱固定までの操作、核酸増幅検査においてウイルスを不活化するまでの操作などを指す。これらの操作は、検体容器を開ける、またはウイルスが存在する潜在的可能性が高い作業または検体を直接扱う場面を想定している。

使用すべき環境は、性能が管理されている安全キャビネット内が推奨される。安全キャビネットの外で扱う場合は検査する場所を限定し、個人防護具はガウン、N95 レスピレーターマスク、フェイスシールドまたはゴーグル、手袋の使用を徹底する。

現時点では新型コロナウイルスによる検査室内感染の報告はないが、本ウイルスの性質が全て明らかにされているわけではない。今回の提言⁵⁹⁾では、新型コロナウイルス感染の有無と関係なく、全ての患者検体は感染性物質として扱う。

(2) 生理機能検査

生理機能検査は患者と直接の接触機会があり、限られた空間で行われることや、また長い時間を必要とすることもある。特に呼吸機能検査は飛沫感染のリスクが高まることが考えられる。基本的には各施設の感染対策方針に沿うことと、普段からアルコール手指消毒などを含めた基本的な予防策を徹底する。

1) 新型コロナウイルスの陽性を疑う、あるいは陽性が判明している患者

- ① 原則、検査は行わないが、必要最低限の検査は施行してもよい。ただし、呼吸機能検査は行わない。
- ② 待機的な手術は延期を検討する。
- ③ 緊急的な手術は、術前評価などで必要な心電図、超音波検査など病室内で実施できる検査にとどめる。またこれらを行う必要がある場合には、各施設の新型コロナウイルスに関する申し合わせに沿った運用を行うか、感染管理を担当する医師などに個人防護具の必要性や操作上の注意点などを確認したうえで行う。個人防護具は、ガウン、サージカルマスク、フェイスシールドまたはゴーグル、手袋を使用する。

2) その他の患者

- ① 各施設で定められた運用で実施する。
- ② 検査を急ぐ必要がない場合（患者に限らず、健康診断を目的とする人などを含む）は、施設の方針として延期などの判断をする。

検査の可否は検査を依頼する医師が判断するが、予約検査の場合は検査日までの間に感染している可能性がある。検査前に問診 *** し、症状や履歴ある患者は主治医へ相談する。

*** 問診の内容：発熱（37.5℃以上）、咳の有無、嗅覚・味覚異常、流行地への渡航・滞在または流行地へ行った人との接触、COVID-19 感染者との接触または濃厚接触した人との接触

検査を実施する場合は患者にサージカルマスクを着用してもらい、検査担当者は、最低限サージカルマスクを着用し、患者の感染リスクに応じて、接触予防策として、ガウンおよび手袋、飛沫予防策として、フェイスシールドの追加を考慮する。

呼吸機能検査は症状のある患者の検査は、原則行わないことを取り決めておくが、萎縮医療に繋がらないよう注意する。急性発症の嗅覚異常、味覚異常についても、新型コロナウイルス感染症の兆候の可能性があり、検査実施前に、その可能性を否定することが望まれる。

最後に、臨床検査部門では、検体採取後の臨床検査部門までの検体の梱包と輸送、検査、または外部委託のための輸送に関わる全てのスタッフが、新型コロナウイルス感染症または感染症を疑う患者検体または患者であることが認識できるような体制を準備しておく必要がある⁶³⁾。

1) 100を超える新型コロナワクチン開発が世界で進む 実用化、普及目指し国際協力を

scienceportal.jst.go.jp/news/.../05/20200522_01.html

2) Moderna announces first participant dosed in NIH-led phase 1 study of mRNA vaccine (mRNA-1273) against novel coronavirus Moderna, Inc - 2020 - Moderna, Inc Cambridge, MA

3) 朝日新聞デジタル版2020 6月29日朝刊

4) Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, Sun R, Wang Y, Hu B, Chen W, Zhang Y, Wang J, Huang B, Lin Y, Yang J, Cai W, Wang X, Cheng J, Chen Z, Sun K, Pan W, Zhan Z, Chen L, Ye F. Development and Clinical Application of A Rapid IgM-IgG

- Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis. *J Virol.* 2020 Feb 27;10.1002/25727. : 10.1002/25727. ahead of print. PMID: 32104917
- 5) WarishAhmed et al., *Science of the Total Environment*, vol.739,article 139960, 2020
 - 6) Kitajima et al., *Science of the Total Environment*, Vol.739, article 139076, 2020
 - 7) <https://www.mhlw.go.jp/content/000640554.pdf>
 - 8) N. Sood, et. al. Seroprevalence of SARS-CoV-2-specific antibodies among adults in Los Angels county, California, on April 10-11, 2020. *JAMA* May 18 (online), 2020.
 - 9) <https://group.softbank/system/files/pdf/antibodytest.pdf>
 - 10) <https://www.mhlw.go.jp/mobile/m/houdou/20200616.html>
 - 11) <https://www.asahi.com/articles/ASN6J6675N6JULBJ009.html>
 - 12) Huang C et al, Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020, 396, 497-506.
 - 13) Guan W-J et al, Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *N Engl J Med* 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
 - 14) 厚生労働省 HP (新型コロナウイルス感染症に関する検査について | 厚生労働省 (mhlw.go.jp))
 - 15) Blanco-Melo, D. et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell* <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026> (2020).
 - 16) Dhiraj Acharya ら , Dysregulation of type I interferon responses in COVID-19. *Nature Reviews Immunology* volume 20, pages397-398 (2020).
 - 17) Hadjadj, J. et al. Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe Covid-19 patients. Preprint at medRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.04.19.20068015> (2020).
 - 18) Zhou, Z. et al. Heightened innate immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients. *Cell Host Microbe* <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.04.017> (2020).
 - 19) Cameron, M. J. et al. Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. *J. Virol.* 81, 8692-8706 (2007).
 - 20) Channappanavar, R. et al. IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes. *J. Clin. Invest.* 130, 3625-3639 (2019).
 - 21) Yilla M., Harcourt B.H., Hickman C.J., McGrew M., Tamin A., Goldsmith C.S., Bellini W.J., Anderson L.J. SARS-coronavirus replication in human peripheral monocytes/macrophages. *Virus Res.* 2005;107:93-101.
 - 22) Wang W., Ye L., Li B., Gao B., Zeng Y., Kong L., Fang X., Zheng H., Wu Z., She Y. Up-regulation of IL-6 and TNF-alpha induced by SARS-coronavirus spike protein in murine macrophages via NF-kappaB pathway. *Virus Res.* 2007;128:1-8.
 - 23) Yoshikawa T., Hill T., Li K., Peters C.J., Tseng C.T. Severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus-induced lung epithelial cytokines exacerbate SARS pathogenesis by modulating intrinsic functions of monocyte-derived macrophages and dendritic cells. *J. Virol.* 2009;83:3039-3048.
 - 24) Zhou P et al, A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, *Nature* | Vol 579 | 12 March 2020
 - 25) Hoffmann M et al, SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor, 2020, *Cell* 181, 271-280 April 16, 2020 ^a 2020 Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
 - 26) Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan. China. *Lancet.* 2020;395:497-506.
 - 27) Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020 Feb 18 doi: 10.1016/S2213-2600 (20) 30076-X.
 - 28) Zha L, Li S, Pan L, Tefsen B, Li Y, French N. Corticosteroid treatment of patients with coronavirus disease 2019 (COVID - 19) *Med J Aust.* 2020 April 8
 - 29) Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020 Mar 13 doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.
 - 30) National Health Commission and National Administration of Traditional Chinese Medicine. Diagnosis and treatment protocol for novel coronavirus pneumonia (Trial Version 7) *Chin Med J.* 2020;133. doi: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2020.0027.
 - 31) Schrezenmeier E, Dörner T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat Rev Rheumatol.* 2020 Feb 7 doi: 10.1038/s41584-020-0372-x.

- 32) National Health Commission and National Administration of Traditional Chinese Medicine. Diagnosis and treatment protocol for novel coronavirus pneumonia (Trial Version 7) Chin Med J. 2020;133. doi: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2020.0027.
- 33) Xu XL, Han MF, Li TT, Sun W, Wang DS, Fu BQ, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. ChinaXiv:202003.00026.
- 34) Zheng, M. et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. Cell Mol. Immunol. 17, 533-535 (2020).
- 35) Channappanavar, R. et al. IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes. J. Clin. Invest. 130, 3625-3639 (2019).
- 36) Qin, C. et al. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. Clin. Infect. Dis. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248> (2020).
- 37) Binzhen Chen 1, Rong Xia 1, Early experience with convalescent plasma as immunotherapy for COVID-19 in China: Knowns and unknowns. Vox Sang. 2020 Aug;115 (6) :507-514. doi: 10.1111/vox.12968.
- 38) Hawkes RA. 1964. Enhancement of the infectivity of arboviruses by specific antisera produced in domestic fowls. Aust J Exp Biol Med Sci 42:465-482.
- 39) Masaya Sugiyama M, et al, Serum CCL17 level becomes a predictive marker to distinguish between mild/moderate and severe/critical disease in patients with COVID-19. Gene 2021 Jan 15;766:145145. doi: 10.1016/j.gene.2020.145145. Epub 2020 Sep 14.
- 40) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル 2019-nCoV ver.2.9.1 <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf>
- 41) 厚生労働省 新型コロナウイルス核酸検出の保険適用に伴う行政検査の取り扱いについて (令和2年3月6日版) <https://www.mhlw.go.jp/content/000604470.pdf>
- 42) 厚生労働省 新型コロナウイルス感染症の現在の状況と厚生労働省の対応について (令和2年12月31日版) https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_15828.html
- 43) 厚生労働省・国立感染症研究所 臨床検体を用いた評価結果が取得された2019-nCoV 遺伝子検査方法について (2020年10月23日版) <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV-17-current.pdf>
- 44) 厚生労働省他 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針 (第2版) (2020年11月10日) <https://www.mhlw.go.jp/content/000696201.pdf>
- 45) 2019-nCoV (新型コロナウイルス) 感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル～ (2020/07/17更新版) file:///Users/MacBookProAF/Downloads/2019-nCoV_200717.pdf
- 46) Fang Y, Zhang H. et al. Sensitivity of chest CT for COVID-19: comparison to RT-PCR. Radiology 296: E115-E117. 2020.
- 47) 日本臨床検査医学会他 新型コロナウイルス核酸検査に係わる施設基準 ならびに検体搬送・精度管理の方針【提言】 <https://www.jslm.org/committees/COVID-19/20200616.pdf>
- 48) 国立感染症研究所 新型コロナウイルス SARS-CoV-2のゲノム分子疫学調査 (2020年4月16日現在) https://www.niid.go.jp/niid/images/research_info/genome-2020_SARS-CoV-MolecularEpidemiology.pdf
- 49) 国立感染症研究所 新型コロナウイルス SARS-CoV-2のゲノム分子疫学調査 (2020年10月26日現在) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/10022-491p01.html>
- 50) Callaway E., The coronavirus is mutating – does it matter? Nature. 2020 Sep;585 (7824):174-177. (2020)
- 51) GISAID. <https://www.gisaid.org/>
- 52) 船渡忠男 新型コロナウイルス PCR 検査の現状と未来における対策 臨床化学 49: 271-275 (2020).
- 53) 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) とその原因となるウイルスの命名について”. WHO (2020年5月7日).
- 54) Clinical care for severe acute respiratory infection: toolkit: COVID-19 adaptation. WHO. (2020). <https://apps.who.int/iris/10665/331736>
- 55) 「新型コロナウイルス感染症を指定感染症として定める等の政令」(令和二年政令第十一号) 厚生労働省 (官報 2020年 (令和2年) 1月28日)
- 56) 坂本史衣: 医療現場の感染対策, 臨床と微生物, Vol.47, NO.6 : 711-718, 2020.11.
- 57) van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH et al. : Aerosol and surface stability of SARS-Co V -2 as compared with SARS-Co V -1. N Engl J Med 382 : 1564-1567,2020.
- 58) Chen AWH, Chu JTS, Perera MRA et al. : Stability of SARS-Co V -2 in different environ- mental conditions. Lancet Microbe 1 : e10, 2020. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247 \(20\) 30003-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247 (20) 30003-3) (2020年8月27日アクセス)

- 59) 日本臨床検査医学会, 新型コロナウイルスに関するアドホック委員会からの提言, 日常検査体制の基本的考え方の提言 (第1版2020年4月13日)
<https://www.jslm.org/committees/COVID-19/20200413-2.pdf>
- 60) World Health Organization, Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) , published on Feb 28, 2020 (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-chinajoint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>)
- 61) World Health Organization, Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV) Interim guidance (https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwjYkr6UJHoAhXOMN4KHUPJBuUQFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fdocs%2Fdefault-source%2Fcoronaviruse%2Flaboratory-biosafety-novelcoronavirus-version-1.pdf%3Fsfvrsn%3D912a9847_2&usg=AOvVaw14bVhETAfw_9bWzRVKss-N)
- 62) 日本環境感染学会, 日本環境感染学会教育ツール Ver. 3 (感染対策の基本項目改訂版) http://www.kankyokansen.org/modules/education/index.php?content_id=5
- 63) 日本臨床検査医学会, 新型コロナウイルスに関するアドホック委員会からの提言 (第1版 2020年3月1日) <https://www.jslm.org/about/jslm/20200301.pdf>