

## 22. インフルエンザウイルス研究センター

センター長 田代 真人

### 概要

当センターは、インフルエンザに関する研究・開発業務及び国の新型インフルエンザ事前準備と緊急対応体制の強化、およびワクチン製剤の品質管理体制の独立を目的として、平成21年4月1日に、6室構成、定員27名で村山庁舎に新設された。業務はインフルエンザの病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファレンス業務、細胞培養ワクチン及び経鼻接種方法の開発、ワクチン製剤の品質管理及び国際協力である。第1室(ウイルスサーベイランス)、第2室(診断検査、国内外研修)、第3室(ワクチン製剤品質管理、GMP管理)、第4室(季節性・新型ワクチン製造株の開発)、第5室(細胞培養ワクチン開発)、第6室(経鼻接種ワクチン開発)が業務を分担・協力しながら実施している。

H22年度の人事異動では、平成22年3月31日付で氏家誠(主任研究官)、平成22年5月31日付で小淵正次(主任研究官)が辞職し、平成22年4月1日付で藤崎誠一郎(任期付研究員)、高山郁代(任期付研究員)、7月1日付で松井清彦(主任研究官)、平成23年1月1日付で川口昌(任期付研究員)が採用された。

センター設立直後に始まった(H1N1)2009 パンデミックは平成21年3月までに実質的に終息したため、平成22年度は通常の季節性インフルエンザ対応業務に移行したが、国による新型インフルエンザ終息が宣言された平成23年3月までは、新型インフルエンザ対応体制を維持した。

流行動向調査(サーベイランス)事業等を地衛研、感染症情報センターと協力して進め、流行ウイルスの抗原・遺伝子解析、流行予測、薬剤耐性モニターを継続し、厚労省の依頼に応じて季節性ワクチン製造株を選定した。また、サーベイランス、ワクチン製造に必要な抗原解析及びワクチン品質管理用の各種標準品を製造・配布及び技術支援を行った。

ワクチン品質管理業務では、国家検定(季節性、新型及び緊急輸入ワクチン)、各標準品に関するレファレンス業務を担当し、生物学的製剤GMPにも協力した。またワクチン国家検

定SOP改定、標準品の開発整備、GMP中心の国際的品質管理体制の確立に努め、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保というNCLの責任を果たした。

国際協力では、WHO監視網(GISN)の基幹であるWHOインフルエンザ協力センターとして、国内外のパンデミック経験、反省、評価に基づいた国際サーベイランス活動及びパンデミック緊急対応の再検討・改善・強化への助言・提言とその実施を担った。一方、通常の活動として、世界各国の分離株・臨床検体の解析、流行予測及び候補ワクチンの効果予測から、南北半球向けのWHOワクチン推奨株を選定した。また、WHO世界インフルエンザ計画(GIP)に参画し、PCR診断、薬剤耐性の各作業班、世界インフルエンザ研究計画の推進、臨床対応指針改訂、ワクチン株選定改良、ワクチン品質管理、培養細胞ワクチン開発などで重要な役割を果たし、またWHO、JICA等の依頼に応じて、周辺諸国への技術指導、研修を行った。一方、WHO H5N1指定研究室として、世界各地の高病原性インフルエンザウイルスの診断、分離、性状解析、技術支援を実施した。また、WHO Essential Regulatory Laboratoryとして、ワクチン製造候補株開発及び参照品の作製、国際標準化、分与及び周辺諸国への技術研修と精度管理試験等を実施した。

国の新型インフルエンザ計画として、平成25年度を目標に、半年以内により有効なワクチンを国民全員に供給できる体制の確立を目標に、細胞培養ワクチン及び経鼻接種方式の実用化に関する開発研究を、WHO及び国内外ワクチンメーカーと協力して推進した。非臨床試験を実施して動物レベルでの安全性、有効性を検証し、今後臨床試験、製造施設の建設を推進することとなった。

業績  
調査・研究

## I. インフルエンザウイルスに関する研究

### 1. 抗インフルエンザ薬感受性試験系の新規構築および改良

抗インフルエンザ薬耐性株の検出には遺伝子型解析と表現型解析が用いられる。日本国内における抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスでは、遺伝子型解析として TaqMan RT-PCR 法および NA 遺伝子部分シーケンス法による H275Y 耐性変異の検索が行われている。一方、表現型解析としては抗インフルエンザ薬感受性試験による IC50 値の算出が行われている。インフルエンザの治療には NA 蛋白を標的とする抗インフルエンザ薬オセルタミビルまたはザナミビルが使用されており、日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスにおいては、オセルタミビルおよびザナミビルに対する感受性試験が行われてきた。2010年には新規薬剤ペラミビルおよびラニナミビルの国内販売が新たに開始されたため、感受性試験の対象を4薬剤に拡大する必要が出てきた。そこで、ペラミビルおよびラニナミビルに対する感受性試験を新規に構築した。抗インフルエンザ薬感受性試験には主に化学発光法と蛍光法が用いられるが、これまで日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスにおいては、化学発光法のみが行われていた。そこで、新たに蛍光法を導入した結果、化学発光法と蛍光法を併用することで、抗インフルエンザ薬耐性株の性状をより詳細に解析することが可能になった。また、化学発光法の改良を行った結果、検出感度を上げること成功した。[高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代真人、小田切孝人]

### 2. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種により得られるヒト血清抗体に対する流行株の交叉反応性を調べることは、インフルエンザワクチンの有効性やワクチン株の変更の必要性を検討するうえで重要である。そこで、成人層および老人層の各群24名からワクチン接種前後のペア血清検体を収集し、流行株に対する交叉反応性を赤血球凝集抑制試験にて評価した。アメリカ、イギリス、オーストラリア、中国から入手したヒト血清についても同様の評価を行った。その成績はWHOインフルエンザ協力センター間で交換された。2月と9月に開催されたWHOインフルエンザワクチン推奨株選定会議で議論され、ワクチン株選定の資料として活用された。

[岸田典子、徐紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、金南希、齋藤玲子\*、池松秀之\*\*、田代真人、小田切孝人：\*新潟大学国際感染医学講座、\*\*原土井病院臨床研究部]

### 3. 2010/11シーズンA/H3およびB型ワクチンの臨床評価に関する研究

日本の2010/11シーズンA/H3およびB型インフルエンザワクチン株は、A/Victoria/210/2009 (H3N2)(X-187)とB/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統)である。フェレット感染血清を用いた赤血球凝集抑制(HI)試験から、これらのワクチン製造株は、孵化鶏卵への馴化により最近のA/H3およびB/ビクトリア系統流行株とは抗原性が異なっていることが示された。すなわち、A/H3およびB型ウイルスに対してワクチン効果が低い可能性が示唆されたことから、ワクチン接種者の血清を用いてワクチンの効果を評価した。HIおよび中和抗体法によるワクチン接種後のヒト血清抗体の流行株との反応性の評価から、2010/11シーズンインフルエンザワクチンは、A/H3流行株には効果が期待できたが、B型流行株に対しては効果が低かったことが示唆された。[岸田典子、藤崎誠一郎、横山勝\*、佐藤裕徳\*、齋藤玲子\*\*、池松秀之\*\*\*、徐紅、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、金南希、佐藤彩、田代真人、小田切孝人：\*病原体ゲノム解析研究センター、\*\*新潟国際感染医学講座、\*\*\*原土井病院臨床研究部]

### 4. インフルエンザウイルスの遺伝子に基づくタンパク質の機能解析

インフルエンザウイルスの機能的遺伝子解析を感染研病原体ゲノム解析研究センターと協力し進めた。①インフルエンザウイルスに対するワクチン候補株選定の一つの手段となることを目標とし、抗原性変化を予測する系の確立を計画した。A/H3N2ウイルスは2007/08シーズン(ワクチン推奨株：A/Brisbane/10/2007)と2009/2010シーズン(ワクチン推奨株：A/Perth/16/2009)では抗原性が大きく異なっている。また、2009/2010シーズンには、抗原性には差が無いものの遺伝子的には明確に区別される集団が2つ(A/Perth/16/2009クレード、A/Victoria/208/2009クレード)存在する。このため、A/H3N2亜型を抗原性変化予測のモデルとし、抗原性解析と遺伝子解析の結果に基づき解析対象株を選定した。現在、対象株につ

いて立体構造を推測し、抗原性の変化について解析を進めている。②A/H1N1pdm09 ウイルスをモデルとし、NA タンパク質内のアミノ酸置換がオセルタミビルとの結合強度に与える影響と、NA 活性に与える影響の予測を実施した。現在 A/H1N1pdm09 ウイルスからは散発的にオセルタミビル耐性株が分離されている。これらの耐性株について実施した遺伝子解析および、薬剤感受性試験結果を利用してアミノ酸置換による NA 立体構造の変化、NA 活性および薬剤感受性への影響を計算上から推測する研究を進めている。[藤崎誠一郎、金南希、佐藤彩、佐藤裕徳\*、本村和嗣\*、横山 勝\*、小口晃央\*\*、山崎秀司\*\*、藤田信之\*\*、田代真人、小田切孝人：\*病原体ゲノム解析センター、\*\*独立行政法人製品評価技術基盤機構]

#### 5. 孵化鶏卵馴化によって起こる変異とウイルス性状の研究

MDCK 由来 H3N2 ウイルスを発育鶏卵に馴化し、そのウイルスの遺伝子、増殖性および抗原性を解析した。発育鶏卵への馴化によってウイルスの HA 価が 32~128 上昇した。また馴化したウイルスの HA 蛋白の 194 位のアミノ酸置換 (L→P) が認められ、この置換が卵への馴化に関与していることが示唆された。フェレット抗血清を用いた HI 試験による馴化ウイルスの抗原性解析では、MDCK 由来ウイルスと比べ、抗原性の変化は認められなかった。[徐 紅、氏家 誠\*、安楽茜、金 南希、高下恵美、藤崎誠一郎、岸田典子、伊東玲子、土井輝子、菅原裕美、田代真人、小田切孝人：\*日本獣医生命科学大学]

#### 6. リアルタイム PCR 法を用いた H275Y オセルタミビル耐性株の検出系の構築

全国の地方衛生研究所において A/H1N1pdm ウイルスの NA 蛋白質が H275Y に変異したオセルタミビル耐性株の出現を迅速に把握するため NA 遺伝子の部分シーケンス法よりも簡便で迅速なリアルタイム PCR 法を用いた H275Y 変異検出法の開発を行った。[中内美名、高山郁代、影山 努]

#### 7. 高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)遺伝子診断検査の改良

2010 年 10 月以降、日本の野鳥および家禽の間で広まった

高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)を高感度に検出するため、リアルタイム RT-PCR 法による高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)の遺伝子診断検出系の改良を行った。改良したプライマー配列および検査マニュアルは全国の地方衛生研究所および検疫所に開示した。[高山郁代、中内美名、影山 努]

#### 8. シードウイルス分離用細胞としての Per.C6 細胞の検討

Crucell 社 (オランダ) が所有する Per.C6 細胞を用いてインフルエンザワクチンの開発研究を行うことを目的とし、MTA の締結と Per.C6 細胞培養系の技術移転を行った。Per.C6 細胞の継代・保存法、ウイルス接種法、ウイルス力価測定法などの技術を Crucell 社での研修で習得し、Per.C6 細胞の高い遺伝子導入効率や基準ウイルス株の良好な増殖性を確認した。Per.C6 細胞培養に必要な試薬・器具の準備や、作業時に使用する記録書を作成し、当該細胞培養系のインフルエンザウイルス研究センターへの導入を行った。[高橋 仁、中村一哉、原田勇一、浜本いつき、板村繁之、田代真人、山本典生]

#### 9. 培養細胞由来ウイルスの鶏卵における増殖性、遺伝的・抗原的安定性の解析

臨床検体より培養細胞を用いて分離した A 型インフルエンザウイルスの鶏卵におけるウイルス増殖性と、増殖したウイルスの性状解析を行なった。その結果、ウイルスの増殖性については、A/H1 型ウイルス株の増殖効率は良かったが、A/H3 型ウイルスの鶏卵での増殖は困難であった。また、A/H1 型ウイルスは鶏卵による継代を繰り返すと非常に早期に、鶏卵分離ウイルスに頻発する遺伝子点変異が起こることが明らかとなった。しかしながら、鶏卵継代過程において、ウイルスの抗原性に大きな変化は観察されなかった。今後は A/H3 型ウイルスの鶏卵への接種法の検討と、B 型ウイルスに関する解析が必要である。[原田勇一、中村一哉、浜本いつき、高橋 仁、田代真人、山本典生]

#### 10. リバースジェネティクス法により作製されたワクチン候補ウイルス株の培養細胞における増殖性の検討

現在リバースジェネティクス法により作製されるインフルエンザワクチン製造用種ウイルスは、鶏卵で高増殖性となるよう設計されているが、この組換え体ウイルスの培養細胞で

の増殖性について評価を行った。その結果、用いるウイルスゲノムの組み合わせによっては培養細胞においても増殖するものがあり、培養細胞で継代を繰り返すことによってその増殖性が高くなる傾向が観察された。しかしながら、現段階ではその増殖性は鶏卵には及ばず、今後さらに継代を重ねることで、より増殖性の改善されたウイルスが得られるのか解析を続けるとともに、高増殖性となったウイルスの性状解析を行なう必要がある。[原田勇一、高橋仁、白倉雅之、中村一哉、浜本いつき、山本典生、板村繁之、田代真人、信澤枝里]

11. シードウイルス分離用細胞としての MDCK 細胞の検討  
感染研の所有する細胞株 (MDCK-C) と、シードウイルス分離効率評価に供されたワクチンメーカーの細胞株 (MDCK-N) について、ウイルス分離効率、分離ウイルスの増殖性、遺伝的安定性、抗原的安定性を検証し、両細胞での高い分離効率と良好な増殖性を確認した。分離ウイルスの細胞での継代によってウイルス亜型に特徴的な遺伝子変異が観察され、これらの変異がクローン化したウイルスを継代した場合においても再現されることを示した。本業務によって、MDCK-C 及び MDCK-N 細胞を細胞基材としてシードウイルスを調製するに際し、ウイルスに与える遺伝的、抗原的な影響について、留意点を明確にした。[中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋 仁、田代真人、山本典生]

12. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究  
ヒトに健康危害を起こすウイルスのうち、ワクチンシードへの混入可能性と混入した場合に生じるリスクの大きさを考慮して被検対象ウイルスを絞り込み、リストを作成した。前年度の「迷入ウイルスの選択的排除の評価」に用いた検出キットの検出感度を勘案し、より高い検出感度が見込まれる定量 PCR を測定原理とするキットを導入した。この試験系での検出限界の信頼性を、既知感染価の基準ウイルスを用いて検証を進めた。[中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋仁、田代真人、山本典生]

13. 高いウイルス増殖効率を持つ細胞株の開発に関する研究  
短期間に大量のワクチンを製造することを可能とするため、鶏卵培養法に代わり細胞培養法を用いたワクチンの開発が進

められている。現在一般的に使用されている細胞株よりも更に効率良くウイルスを増殖させる細胞株を開発するため、I 型インターフェロン(IFN)シグナル伝達経路に関連する siRNA ライブラリーを構築し、ウイルス増殖効率を上昇させる標的遺伝子のスクリーニングを行った。siRNA を導入した A549 細胞にウイルスを感染させ、その後培養上清中に放出されたウイルス量を定量したところ、ウイルス増殖効率の上昇が認められたものは 35 種類あり、半数以上が RIG-I/IPS1 経路に関連する分子であった。[浜本いつき、田代真人、山本典生]

14. 細胞培養インフルエンザワクチンの安全性に関する Points to Consider (案) の策定  
細胞培養ワクチン研究班における幅広いディスカッションの中から、各班員に共通する問題点を「留意すべきポイント」として抽出した。それらについて既存の関連するガイドラインを参照した上でディスカッションを行い、研究班としての見解を「細胞培養インフルエンザワクチンの安全性に関する Points to Consider (案)」としてまとめた。[山本典生、中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋 仁、田代真人]

15. シードウイルス製造用 MDCK セルバンクの構築  
まず ATCC から購入した MDCK 細胞を無血清培地に馴化させた。この細胞をセルバンク構築用細胞とし、GMP に準拠した条件下でマスターセルバンク及びワーキングセルバンクの構築を行った。さらに、マスターセルバンクの造腫瘍性等を試験するための予備的な検討を行い、セルバンクのバリデーションを行うための基盤整備を進めた。今回構築したセルバンクは臨床検体からのシードウイルスの分離、リバースジェネティクスによるシードウイルス作製などに使用することが出来る。これによって、細胞培養法に適合したワクチンシードウイルス製造体制の構築へ向けて大きく前進した。[山本典生、田代真人]

## II. インフルエンザワクチンに関する研究

1. 新型インフルエンザ H1N1pdm09 ワクチン候補株の安全性試験

昨年度、感染研で作製した新型インフルエンザ H1N1pdm09 ワクチン株のうち、増殖性が高かった NIIDRG-7 株は、遺伝子構成が 7:1 (HA 遺伝子のみ A/California/7/2009 (Cal7) 株由来、

残りの遺伝子は全て PR8 株由来)で、従来用いられているワクチン株の6:2遺伝子構成(HA, NAが新型由来)とは異なるため、フェレットを用いたの安全性確認試験を行った。NIIDRG-7、野生株の Cal7 および PR8 株をそれぞれフェレットに感染後、3 日の咽頭拭い液、肺、小腸などの臓器におけるウイルス感染価の測定を行った。その結果、Cal7 感染フェレットでは肺および上気道における高いウイルス感染価が認められたが、NIIDRG-7 感染フェレットでは、感染価は著しく低く、低病原性ウイルス PR8 感染フェレットと同程度であった。また、感染後 14 日間の症状の観察においても、Cal7 感染フェレットでは、体重減少が観察されたのに対し、NIIDRG-7 接種フェレットでは、ほとんど体重減少は観察されなかった。このことから NIIDRG-7 が Cal7 よりもワクチン候補株としての安全性が高いことが示唆された。[長谷川秀樹、永田典代<sup>\*</sup>、相内 章、鈴木忠樹<sup>\*</sup>、浅沼秀樹、白倉雅之、信澤枝里、田代真人：<sup>\*</sup>感染病理部]

## 2. 新型インフルエンザ H1N1pdm09 ワクチン候補株の改良

2009 年 4 月以降、世界的大流行を引き起こした新型インフルエンザウイルス 2009(H1N1)に対するワクチン候補株はウイルス蛋白収量及び HA 含量が季節性ワクチン株に比べ著しく低いことが、問題となっていた。その原因として H1N1pdm09 の遺伝子構成は複雑で 4 種類のウイルスに由来し、ウイルス蛋白間の相互作用が効率的に行われず、増殖性が落ちている可能性があった。そこで、感染研で作製した NIIDRG (A/California/07/2009(Cal7; H1N1pdm)由来)を基に H1N1pdm09 の HA 遺伝子と同系統の[A/Wisconsin/10/98(WI10; H1N1)]の NA および/または M 遺伝子を有するウイルス 4 種を作製し、増殖性への影響を検討した。その結果、Cal7-HA/WI10-NA の組み合わせのウイルスでは、増殖性の改良がみられたものの、既存の NIIDRG-7(HA:Cal7;他の遺伝子:PR8)と同程度であった。現在、抗原回収量を測定し、より詳細な解析を実施している。[白倉雅之、信澤枝里、田代真人]

## 3. Reverse Genetics (RG)法による新型インフルエンザワクチン株作製の改良

インフルエンザウイルスのパッケージングシグナル(非コード領域 (NCR) を含む)はウイルスの粒子形成効率を決定する因子の一つである。高増殖の新型ウイルスワクチン株を迅

速に作製する手法を確立するため、NCR の影響を検討した。RG 法で新型ウイルスを作製する際は、PR8 株をバックボーンウイルスとして用いるため、PR8 株と当該ウイルス株の NCR が増殖性に及ぼす影響を比較検討した。具体的には、異なる HA 亜型(H1,H5,H9)に属する 3 種類のウイルス、A/California/07/2009(H1N1pdm)(Cal7), A/Vietnam/JP1203/2004 (H5N1)(JP1203), A/swine/Hong Kong/9/98(H9N2)(SwHK9)を対象に、非コード領域 (NCR) の配列をバックボーンの PR8 由来の配列、あるいは、そのウイルス株由来の配列 (ホモ配列)にした RG ウイルスを作製した。その結果、Cal7 と JP1203 では、HA 価、蛋白回収量、HA 含量に両者の差は認められなかった。一方、SwHK9 では、HA 価は両者とも、同程度であったが、PR8 由来の配列を有するウイルスと比較して、ホモ配列のウイルスの方が、蛋白回収量は約 1.5 倍、HA 含量については、約 2 倍多くなった。以上の結果から、各亜型あるいは株により NCR 配列がウイルス複製あるいは粒子形成に及ぼす影響が異なることが示唆された。今後、ワクチン株作製の影響をさらに検討する。[白倉雅之、信澤枝里、田代真人]

## 4. 国内発生 H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスの性状解析と RG ウイルス作製準備

2010/2011 年シーズンに日本国内で鳥 (野鳥、家禽) から分離されたウイルス株を入手し、鶏卵で増殖させ、遺伝子解析を行い、RG 法によるリアソータントウイルス作製準備を行った。HA 遺伝子の強毒性に関与する開裂領域を除き、p0II ベクターへ組み込んだプラスミドを作製した。

一方、日本で発生した H5N1 ウイルスと同一クレード(2.3.2)に属するワクチン候補株(SJRG166615)とその元株に対する血清を輸入し、国内株との抗原性の比較を行った。用いたウイルス株は A/chicken/Shimane/1/2010、A/whooper swan/Hokkaido/4/2011、および SJRG166615 で、抗原解析の結果、ワクチン株の抗原性から HI 価で 2~3 管の差が観察された。HI 価の測定は、従来、感染研で用いられてきた七面鳥血球 (TRBC)の他、他の WHOCC で使用されているニワトリ血球 (CRBC)、ヒト血清を用いた抗原解析に使用されるウマ血球 (HRBC)を用いて行った。その結果、CRBC>TRBC>HRBC の順に抗原性の差が観察され、今後、H5N1 の抗原解析に用いる血球の統一化が必要となった。[川口 晶、白倉雅之、信澤枝里、田代真人]

5. 発育鶏卵およびMDCK細胞を用い、臨床検体からのウイルス分離ならびに高増殖株の性状解析を行っている。検査キットでA型陽性の検体40例についてMDCK細胞で分離を行った結果、28例にHA価が認められた(HA価:2~128)。一方、同検体を発育鶏卵(E1)で分離した結果、4例にのみHA価が認められ、他の検体のHA価は検出限界以下であった。しかし、HA価が認められなかった36例の漿尿液を鶏卵で継代(E2)したところ、6例にHA価(HA価:2~128)が認められ、E10まで継代した結果、高いHA価(512)を示した株を獲得した。現在、前年度に分離された株も含め、512以上のHA価を示した鶏卵分離株10株の感染価をはじめとする性状解析を行っている[浅沼秀樹、信澤枝里、白倉雅之、中内美名、小田切孝人、許斐奈美\*、田代真人:\*日大・医]

#### 6. アジュバント併用経鼻接種インフルエンザワクチン開発に関する研究

これまでの研究で、インフルエンザ抗原をflt-3リガンドプラスミド(pFL)とCpG-ODN(CpG)をアジュバントとしてマウスに経鼻接種することで免疫増強が誘導できることを示してきた。引き続き誘導された免疫応答が、インフルエンザの変異株に対し有効かどうかを検討した。その結果、PR8の感染に対し、同株で免疫した群だけでなく、A/熊本、A/北京、A/武漢株で免疫した群にも高い防御効果が認められた。また、A/武漢で免疫した群には防御効果と相関して上気道に高いPR8反応性IgA抗体の誘導が認められた。このことからpFLとCpGの混合アジュバントは上気道にIgAを誘導できる有効なアジュバントであることが示唆された。[浅沼秀樹、佐多徹太郎、関根伸一\*、藤橋浩太郎\*\*:\*大阪大学、\*\*アラバマ大学]

#### 7. 経鼻投与型インフルエンザワクチンにおける抗原性の異なる株による追加免疫の及ぼす影響に関する研究

A/H1N1pdm09に対するワクチンは成人で1回の皮下接種で十分な血清中の中和抗体応答が得られた。これは過去の季節性インフルエンザウイルス感染やワクチン接種による免疫記憶が、A/H1N1pdm09ワクチン接種後の免疫応答に影響を及ぼしたと考えられる。不活化ウイルス粒子の経鼻ワクチンでは感染を伴わずに感染防御に有用な粘膜免疫の誘導が可能であるが初回免疫と追加免疫で抗原性が異なった場合に誘導され

る免疫応答についてはその交叉応答性について明らかでない。経鼻ワクチン接種において初回免疫と抗原性の異なるワクチン株で追加免疫した場合の免疫応答について血清中の中和抗体、気道粘膜上に分泌されるIgA抗体の反応性、感染防御及び交叉防御能について検討した。A/PR8株全粒子不活化ワクチンの初回接種後、A/PR8株あるいはA/Narita株全粒子ワクチンを追加接種した実験群について解析を行った。A/Narita株全粒子ワクチン追加接種により、A/Narita株HAに対する血清中のIgG抗体応答が見られた。経鼻ワクチンにおいては抗原性の異なる不活化全粒子ワクチン接種による免疫履歴がある場合には、新規ウイルスの全粒子ワクチンの一回経鼻接種で、新規ウイルスの感染を防御する可能性が示唆された。[相内章、伊藤良[研究生]、長谷川秀樹、浅沼秀樹、田村慎一\*、佐多徹太郎\*、田代真人:\*感染病理部]

#### 8. ヒト鼻腔洗浄液中における中和抗体価の測定法の確立

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンは、感染のある気道粘膜上に交叉防御能を有する分泌型IgA抗体を誘導する。ヒトで鼻腔粘膜に誘導される分泌型IgA抗体が実際にウイルスを中和する能力があるか、さらには交叉防御能力を持つかどうかは明らかでなかった。本研究では、ヒトにおいて経鼻インフルエンザワクチンにより誘導される鼻腔洗浄液中の中和抗体の測定を試みた。成人ボランティア5名に季節性インフルエンザウイルス(A/Uruguay/716/2007、H3N2)の三倍濃縮スプリットワクチンを3週間間隔で計5回経鼻接種した。生理食塩水を用いて鼻腔洗浄液を回収し、濃縮操作により生理的濃度に調整した後に中和抗体価を測定した。接種ワクチン株特異的な中和抗体の存在が鼻腔洗浄液中に確認され、中和抗体価の測定に成功した。被験者のこれまでのウイルス抗原への感作履歴を反映し、異なるウイルス株に対しても中和活性を示すことが明らかになった。なお本研究は、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認を得た上で実施した。[相内章、長谷川秀樹、田村慎一\*、伊藤良[研究生]、鈴木忠樹\*、浅沼秀樹、佐多徹太郎\*、田代真人:\*感染病理部]

#### 9. インフルエンザワクチンの剤型の違いによる免疫応答の違いに関する研究

インフルエンザ全粒子ワクチンおよびスプリットワクチン

の性状・形状の違いはワクチンの抗原提示細胞へのデリバリーとそのプロセッシングをコントロールする上で重要なファクターである。本年度はこれらのワクチン製剤を接種後のウイルス増殖抑制効果及び抗体応答を調べた。全粒子ワクチンによるウイルス増殖抑制効果はスプリットワクチンによるものよりも高いことを確認した。一方、ワクチン接種後にチャレンジウイルスを感染した3日後のワクチン特異的抗体価はスプリットワクチンによる場合の方が高く、その意味については更なる検討が必要である。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、笠井道之\*、板村繁之、田代真人：\*血液・安全性研究部]

## レファレンス業務

### 1. サーベイランスキット作製と国内外への配布

A/H1、A/H1pdm09、A/H3、B/Victoria系統、B/Yamagata系統のレファレンスウイルスからフェレット感染血清と不活化抗原を作製して、型/亜型/系統を同定するためのインフルエンザウイルスサーベイランスキットとし、71カ所の地方衛生研究所に配布した。本キットにより同定されたウイルスの分離情報は地方衛生研究所で病原体検出情報システムに登録され、そのシステムを通じて当室は地方衛生研究所からウイルスの提供を受けた。それらのウイルスについて詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行いインフルエンザの流行予測およびワクチン株選定の資料とした。海外へは中国、台湾、韓国、ミャンマー、モンゴル、ラオス、ネパールの7カ国に配布した。[岸田典子、徐 紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金 南希、小田切孝人、田代真人]

### 2. インフルエンザ株サーベイランスコア・サポート地衛研—感染研共同研究連携網の構築と運用

衛生微生物技術協議会感染症部会から推薦された全国6地方ブロック代表地衛研およびそれらを支援する5つの地衛研からなる、インフルエンザ株サーベイランスコア・サポート地衛研を組織し、感染研インフルエンザウイルス研究センターとの検査・サーベイランス技術開発共同研究体制を構築した。初年度の共同研究活動として、TaqMan リアルタイム PCR 法を導入したインフルエンザ A/H1N1pdm09 ウイルス薬剤耐性マーカー変異の検出系の構築、精度評価、複数機種に対応できるマニュアルの作成を行った。これらを全国地衛研へ技術移転し、2010/11 シーズンの薬剤耐性株サーベイランスを

実施した。[小田切孝人、影山努、高下恵美、中内美名、高山郁代、田代真人、皆川洋子\*、安井善宏\*、長野秀樹\*\*、池田辰也\*\*\*、川上千春\*\*\*\*、林 志直\*\*\*\*\*、滝沢剛則\*\*\*\*\*、加瀬 哲男\*\*\*\*\*、田中智之\*\*\*\*\*、戸田昌一\*\*\*\*\*、千々和勝己\*\*\*\*\*、平良勝也\*\*\*\*\*：\*愛知県衛生研究所、\*\*北海道衛生研究所、\*\*\*山形県衛生研究所、\*\*\*\*横浜市衛生研究所、\*\*\*\*\*東京都健康安全研究センター、\*\*\*\*富山県衛生研究所、\*\*\*\*\*大阪府公衆衛生研究所、\*\*\*\*堺市衛生研究所、\*\*\*\*\*山口県環境保健センター、\*\*\*\*\*福岡県保健環境研究所、\*\*\*\*\*沖縄県衛生環境研究所]

### 3. 我が国に飛来する野生水禽における A 型鳥インフルエンザウイルスの生態調査

全国 8 カ所の地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査を行った。本年度は3件の分離報告があり、H4N6 及び H8N4 亜型の A 型インフルエンザウイルスをライブラリーに追加保存した。[高山郁代、松井清彦、中内美名、影山 努、田代真人]

### 4. 日本のブタにおける新型インフルエンザウイルスの発生の監視

新型インフルエンザ出現の中間宿主と考えられているブタにおけるインフルエンザウイルスの流行および新型インフルエンザウイルス(ヒトやブタの間でこれまでに流行していない新たな亜型のインフルエンザウイルス)発生の監視を目的として、12 カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行った。本年度は、1 カ所でインフルエンザウイルスが分離され、遺伝子解析を行った結果、本年度ヒトで流行した A/H1N1pdm ウイルスである事が判明した。また、ブタインフルエンザウイルスあるいは鳥インフルエンザウイルスとの新たな遺伝子再集合は認められず、A/H1N1pdm ウイルスに感染したヒトから持ち込まれたと考えられた。[高山郁代、松井清彦、中内美名、影山 努、田代真人]

### 5. インフルエンザワクチンの力価測定用標準抗原の国際キャリブレーション

WHO ERL として、ワクチンの力価測定用標準抗原の国際キャリブレーションを実施した。具体的には、A/California/7/2009 (X-181) (H1N1v)、A/Victoria/210/2009 (X-187) (H3N2)、A/Wisconsin/15/2009(X-183) (H3N2)、B/Brisbane/60/2008(BX-35)について、新規ロットの標準インフルエンザ HA 抗原に含有される HA 抗原の含有量の設定を、英国、豪州、米国の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、TGA、CBER と共同で実施した。[嶋崎典子、河野直子、板村繁之、田代真人]

#### 6. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための標準抗原・参照抗血清の作製

平成22年度のインフルエンザ HA ワクチンに使用するワクチン株である A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1v)、A/Victoria/210/2009 (X-187) (H3N2)、B/Brisbane/60/2008 の3株について国家検定の力価試験に使用する参照抗インフルエンザ HA 抗血清と標準インフルエンザ HA 抗原（一元放射免疫拡散試験用）を作製し、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量、及び参照抗血清の至適濃度の設定を実施し、本年度国内標準品として制定した。[嶋崎典子、河野直子、佐藤佳代子、原田勇一、高橋 仁、板村繁之、田代真人]

### サーベイランス業務

#### 1. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

2009 年に出現し世界的大流行を引き起こしたインフルエンザ A (H1N1) 2009 (A/H1N1pdm09) ウイルスは、出現当初から M2 蛋白を標的とする抗インフルエンザ薬アマンタジンに対して耐性を示していた。そのため A/H1N1pdm09 の治療には、NA 蛋白を標的とする抗インフルエンザ薬オセルタミビルまたはザナミビルが WHO により推奨されてきた。世界各国で分離された A/H1N1pdm09 ウイルスのほとんどは、オセルタミビルおよびザナミビルに対して感受性であるが、NA に特徴的なアミノ酸変異 (H275Y) をもつオセルタミビル耐性株が散発的に検出されている。日本は世界最大の抗インフルエンザ薬使用国であることから、薬剤耐性 A/H1N1pdm09 ウイルスの検出状況を逐一把握し、速やかに情報発信することは公衆衛生上極めて重要である。そこで地方衛生研究所と共同で、2009 年 9 月から抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施してきた。2009/10 シーズンには、8,145 株の A/H1N1pdm09 分離株が解析

された。その結果、79 株の H275Y 耐性変異株が検出され検出率は 1.0%であった。H275Y 耐性変異株はオセルタミビルおよび新規薬剤ペラムビルに対する感受性が低下していたが、ザナミビルに対しては感受性を保持していた。国内で検出された H275Y 耐性変異株の大半は散発例であり、地域への感染拡大は確認されていない。また H275Y 耐性変異株の多くはオセルタミビルあるいはペラムビルの治療投与または予防投与中に検出された。

薬剤耐性株サーベイランスで得られた結果は、感染症情報センターの IASR ウェブサイトにおいて毎月公表し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。さらに毎月 FluNet を通じて日本国内における耐性株検出状況を報告し、WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) への情報提供を行った。[高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐 紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、佐藤 彩、本村和嗣\*、佐藤裕徳\*、小田切孝人、田代真人：\* 病原体ゲノム解析研究センター]

#### 2. 2010/11 シーズン国内株サーベイランス

2010年4月から2011年3月の間に、全国の地方衛生研究所よりウイルスの提供を受け、A/H1N1pdm09は249株、A/H3N2は125株、Bは143株について赤血球凝集抑制試験により抗原性解析を行った。旧季節性A/H1N1ウイルスは分離されなかった。A/H1N1pdm09分離株のほとんどはワクチン株であるA/California/7/2009類似株であった。A/H3分離株の大半はワクチン株であるA/Victoria/210/2009類似株であった。B型ウイルスではVictoria系統株が9割以上を占めた。Victoria系統分離株はワクチン株のB/Brisbane/60/2008と抗原性の類似した株が大勢を占めた。[岸田典子、徐 紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金南希、佐藤 彩、小田切孝人、田代真人]

#### 3. アジア地域および近隣諸国で分離されたインフルエンザウイルス株の解析

WHO インフルエンザ協力センターとして、東南アジア諸国および近隣諸国から 393 株 (中国 155 株、台湾 46 株、ミャンマー 91 株、韓国 27 株、ラオス 49 株、モンゴル 25 株) のインフルエンザ分離株を入手し、遺伝子解析および抗原性解析を行なった。当該国でのインフルエンザ流行はわが国と同様、

H1N1pdm09、A/H3N2 および B ウイルスが流行し、殆どの国で、H1N1pdm09 の流行が主流だった。モンゴルでは、H3N2 が主流であった。2010/2011 シーズンの H1N1pdm09 株も遺伝的、抗原的にワクチン株 A/California/07/2009 類似株であった。A/H3N2 ウイルスの流行株は前シーズンから抗原性が大きく変わった A/Perth/16/2009 類似株であった。B 型ウイルスについては、Victoria 系統が流行の主流であり、B/Brisbane/60/2008 類似株で、Yamagata 系統のウイルス株は B/Bangladesh/3333/2007 類似株であった。これら解析結果はウイルス提供国へ還元された(23 回/年: 中国へ 8 回、台湾 2 回、ミャンマー 3 回、韓国 3 回、ラオス 4 回、モンゴル 3 回)。さらに、WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議の資料として活用された。一方、WHO-GISRS メンバーの Cambridge 大学グループにより、ウイルス抗原性変化を 2 次的に分析する Cartography 法が開発され、ワクチン株選定会議に応用されている。このため、感染研で解析した流行株 764 株の HI (H1N1pdm09:307 株、H3:193 株、B 型:264 株)と 538 株 (H1N1pdm09:1194 株、H3:141 株、B: 203 株)シーケンスデータを Cambridge 大学へ送り、Cartography での解析に供した。これらの成績も WHO ワクチン株選定会議へ提供され、近隣諸国の株サーベイランスへの貢献および WHO-GISRS へ貢献果した。[徐 紅、岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、伊東玲子、土井輝子、菅原裕美、江島美穂、金 南希、佐藤 彩、小田切孝人、田代真人]

#### 4. 2010/11 シーズンのヒトインフルエンザウイルス流行株の遺伝子解析

インフルエンザウイルスの HA 及び NA 遺伝子解析は、次シーズンのインフルエンザ流行予測とワクチン株選定にとって重要な役割を占めている。このため全国の地方衛生研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構 (NITE) 及び感染研病原体ゲノム解析研究センターとの協力のもとに、2010/11 シーズンのヒトインフルエンザウイルス流行株の HA 及び NA 遺伝子について系統樹解析を行った。A/H1N1pdm 亜型の HA 遺伝子のほとんどはアミノ酸置換 S203T を持っており、さらに A197T を持つ株が日本国内の主流であった。また抗原変異を伴うアミノ酸置換 (K153E/Q、K154R/Q/E、G155E、N156D、S157T) も散見されたものの、すべての分離株は A/California/7/2009pdm に代表される一連のクレードに属した。

NA 内にアミノ酸置換 H275Y を持つオセルタミビル耐性株も散見されたが、遺伝子系統樹上で特定の集団を形成することはなく、耐性株の伝播を示唆する結果はなかった。H3N2 亜型は、HA 遺伝子に E62K、N144K、P162S のアミノ酸置換を持つクレード (A/Perth/16 クレード) および、D58N、Y94H、I230V、E280A または、N312S のアミノ酸置換を持つクレード (A/Victoria/208 クレード) のいずれかに属した。B 型では、ビクトリア系統の多くは N75K、N165K、S172P のアミノ酸置換を持つ B/Brisbane/60/2008 クレードに属した。解析数は限定的だが、山形系統は、S150I、N165Y、G229D のアミノ酸置換を持つ一群 (クレード 3) に属した。解析した遺伝子配列は国際インフルエンザウイルスデータベース GISAID へ登録された。[藤崎誠一郎、金 南希、佐藤 彩、佐藤裕徳\*、本村和嗣\*、横山 勝\*、小口晃央\*\*、山崎秀司\*\*、藤田信之\*\*、岸田典子、徐 紅、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、小田切孝人、田代真人: \*病原体ゲノム解析センター、\*\*独立行政法人製品評価技術基盤機構]

#### 品質管理に関する業務

1. インフルエンザワクチン力価測定用標準抗原のキャリブレーションにおける HA 蛋白含量測定に関する検討  
力価試験用の標準抗原のキャリブレーション精度を上げることは、世界的に力価が一定のワクチンを供給するために重要である。精度向上のためには、一次標準品である Primary liquid standard (PLS、ウイルス全粒子)の総たん白質含量や、PLS の SDS-PAGE 法による HA 蛋白含有率に関して、ERL ラボ間の誤差を少なくしなければならない。今回、A/mallard/Netherlands/12/2000 (NIBRG-60) (H7N3)と A/mallard/Netherlands/12/2000 (NIBRG-63) (H7N1)の 2 種類の PLS を用いて標準抗原 A/mallard/Netherlands/12/2000 (NIBRG-60) (H7N3)の国際キャリブレーションを行ったところ、ラボ間で非常に大きな乖離が生じた。原因を検討するために 2 種類の PLS の SDS-PAGE 上のウイルス蛋白を Mass spectrometry (MS) により同定して HA 含有量を求めたが、PLS の不活化剤が影響しているのか同定精度が充分ではなかった。ウイルス蛋白に対する MS 同定の条件検討が必要であることがわかり、引き続き検討を行っている。[嶋崎典子、佐々木祐子\*、原田勇一、板村繁之、田代真人: \*細菌第 2 部]
2. インフルエンザ HA ワクチンの力価試験の精度管理及

#### び規格確認

インフルエンザ HA ワクチンは毎年ワクチン株が見直しされるため、ワクチンの国家検定の力価試験として実施されている一元放射免疫拡散試験の測定精度が一定の範囲内にあるように毎年確認して調整する必要がある。また、マウス白血球数減少試験や蛋白質含量試験において生物製剤基準の許容範囲の上限に近いために、毎年のワクチンが規格に適合しているのか確認する必要がある。そこで、本年も各ワクチン製造所で試作されたワクチンについて測定を実施して規格に適合していることを確認するとともに、各製造所の測定値との乖離について検討した。さらに参照インフルエンザ HA ワクチンを使用して各試験の測定精度についての検討を実施した。[嶋崎典子、河野直子、佐藤佳代子、板村繁之、矢野茂生\*、福田靖\*\*、田代真人：\*血液安全性研究部、\*\*細菌第2部]

#### 3. 分画試験法の改良

インフルエンザ HA ワクチンの分画試験において、HA 蛋白の検出に生物活性である赤血球凝集活性を利用してきたが、近年ワクチンに使用されているウイルス株によって HA 活性に大きな差があり、検出法の改良が必要とされている。そこで分画試験における HA 蛋白の検出方法としてサンドイッチ ELISA 法により HA 蛋白を同定する方法を開発し、単一ウイルス株に由来する 1 価ワクチン及び 3 種類のウイルス株のワクチンを混合した 3 価のワクチン用いた比較を行い、試験法の妥当性を検討した。新規に開発したサンドイッチ ELISA 法を用いた 3 価ワクチンに含有されるそれぞれのウイルス株の分画パターンは 1 価ワクチンを用いた場合と類似しており、3 価ワクチンである最終小分製品でも個々の分画パターンを解析できることがわかった。[佐藤佳代子、板村繁之、田代真人]

#### 4. 新型インフルエンザワクチン株製造のための 9 号棟施設の GMP 準拠運用

第 9 号棟をワクチン株製造施設として稼働させるにあたり必要となる基準書や手順書について、昨年に引き続き、設備の運用方法、入退出手順、衛生管理方法について検討し、基準書、標準手順書などの文書整備及び設備管理を実施した。作成した文書に基づき、環境モニタリングの実施及び記録、清浄化作業の実施及び記録、昆虫相診断の実施及び対応策の

検討などを行った。より充実した品質管理を行うために必要な文書整備や設備管理について引き続き検討を行っている。また、ワクチン株作製用の細胞を保管するための液体窒素製造機については、モニタリング OQ を検討し、停電中もモニタリング可能な信号や停電後自動復帰する装置が確認できた一方で、中央監視室に通報されない警報信号があることも判明した。[佐藤佳代子、佐々木祐子\*、嶋崎典子、白倉雅之、浅沼秀樹、有田知子、篠原克明\*\*、網 康至\*\*\*、信澤枝里、板村繁之、田代真人：\*細菌第 2 部、\*\*バイオセーフティ管理室、\*\*\*動物管理室]

#### 5. GMP 管理区域内における新型インフルエンザワクチン候補株作製のための文書整備

村山庁舎 9 号棟の GMP 準拠施設における新型インフルエンザワクチン株の製造工程、品質管理方法、安全性試験法について、検討を行い、手順書及び製造指図記録書等の変更、改訂を行った。[浅沼秀樹、白倉雅之、信澤枝里、田代真人]

#### 6. インフルエンザワクチン候補株の増殖、試験交付

新型インフルエンザワクチン候補株 H1N1pdm09 及び季節性ワクチン候補株を輸入し、GMP 準拠施設内で増殖させ、ワクチン候補株としての適格性を検討し必要に応じてメーカーへの試験交付に供した。[河野直子、川口 晶、佐藤佳代子、白倉雅之、信澤枝里、板村繁之、田代真人]

### 国際協力業務

#### 1. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定に関する協議、技術改良への参画

WHO ジュネーブ本部で 2 月、9 月にそれぞれ開催されたインフルエンザワクチン株選定会議へ出席し、国内および日本周辺諸国から収集したウイルスの性状、薬剤耐性株の検出状況、ワクチン接種後の抗体保有状況、交叉反応性などの情報提供をし、次年度のワクチン株選定を他の WHO インフルエンザ協力センターと共に行った。また、6 月にマニラで、12 月にチュニジアでそれぞれ開催された WHO ナショナルインフルエンザセンター(NIC)会議で北半球諸国のインフルエンザ流行株の性状とワクチン株および新規に開発した薬剤耐性株検出法について報告した。今年度から始まった WHO のインフルエン

ザワクチン株選定技術改良会議に参加し、株選定のための新規技術開発や今後の選定会議の進め方等について協議した。

[小田切孝人、岸田典子、徐 紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金 南希、横山 勝\*、佐藤裕徳\*、小口晃央\*\*、山崎秀司\*\*、藤田信之\*\*、田代真人：\*病原体ゲノム解析研究センター、\*\*独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部]

## 2. 国際インフルエンザウイルスデータベース(GISAID)ワーキンググループへの参加およびデータベース改良への貢献

インフルエンザウイルスの国際データベース(Global Initiative on Sharing All Influenza Data: GISAID)は2006年8月に構築・公開されたデータベースであり、各国の研究者が無償でヒト及びトリインフルエンザウイルスについての情報を収集できることを目的としている。2009年5月からはドイツのマックス・プランク研究所により継続・維持されており、それに伴い GISAID は新規構築されることになった。現在各 WHO CC, NIC の研究者を中心とした GISAID 運営ワーキンググループに参加し、GISAID の問題点、改善点を収集しデータベース改良を進めた。2010年には、①GenBank への自動登録の廃止、②個人用解析ツールである Workset 機能および、Blast 検索機能の追加が行われた。このうち GenBank への自動登録の廃止については、GISAID 登録遺伝子について特許取得を禁止するなど、ウイルスを分離、解析した機関の権利を保護する目的で行われている。データベースに対する意見交換、情報収集、問題点・改善点の抽出は今後も継続して行われ、GISAID システムの検証と改善が進められる。[藤崎誠一郎、小田切孝人、田代真人]

## 3. インフルエンザウイルスの実験室診断法の技術研修

ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE) から2名の職員を平成22年7月12日から7月23日まで受け入れ、インフルエンザウイルスの実験室診断法に関する技術研修を行った。[影山 努、中内美名、高山郁代]

## 4. 国際協力機構 (JICA) ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE) 能力強化計画プロジェクトにおける研修

平成22年7月12日から7月30日に JICA ベトナム国立衛

生疫学研究所 (NIHE) 能力強化計画プロジェクトにおいて、1名の研修生に対して、インフルエンザウイルスの実験室診断法、実験室診断の精度管理および地方衛生研究所におけるインフルエンザウイルス診断の実際について研修を行った。[影山 努、中内美名、高山郁代]

## 5. ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE)における高危険度病原体の実験室診断能力強化への技術支援

ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE)において国際協力機構 (JICA)が実施している BSL3 実験室の供与と技術移転のプロジェクトに参加し、高病原性鳥インフルエンザウイルスの実験室診断を安全に且つ信頼性の高いレベルで実施するためのセミナーおよび技術支援を行った。[影山 努]

## 6. インフルエンザウイルスの実験室診断法、インフルエンザサーベイランス等の技術研修

台湾疾病管制局 (台湾 CDC) から研究者を1名平成22年10月13日から10月22日まで受け入れ、インフルエンザウイルスの実験室診断法、インフルエンザサーベイランスなどに関する技術研修を行った。[影山 努、中内美名、高山郁代、岸田典子、徐 紅、高下恵美、藤崎誠一郎、小田切孝人、田代真人]

## 7. モンゴル National Influenza Center (NIC)における薬剤耐性インフルエンザウイルスサーベイランスへの技術支援

WHO 短期コンサルタントとして、当センターで構築し日本において2010/11シーズンより全国地方衛生研究所で実施導入されている、A/H1N1pdm タミフル耐性株迅速検出法のモンゴル NIC への技術供与を行った。[中内美名]

## 8. 海外 NCL からのインフルエンザワクチンの力価測定依頼

豪州の TGA から H1N1pdm 1 価ワクチンの力価が貯蔵中に経時的に低下しているとの懸念があるとのことで力価の国際検査を依頼され、A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1v)株および A/California/7/2009 (X-181) (H1N1v)株の H1N1pdm 1 価ワクチン9検体について力価試験を実施した。[嶋崎典子、河野直子、板村繁之、田代真人]

9. インフルエンザワクチンの品質管理に関する国際研修の実施

インドネシアの医薬品食品管理庁のワクチンの品質管理に従事する研修生4名に対して JICA の依頼に基づいてインフルエンザワクチンの力価試験、マウス白血球数減少試験及び異常毒性否定試験について、のべ4週間の研修を実施した。

[板村繁之、持田恵子\*、益見厚子\*\* : \*細菌第2部、\*\*血液・安全性研究部]

10. 新型インフルエンザワクチン候補株

2009(H1N1)pdm(NIIDRG-7)のフェレットを用いた安全性試験結果をワクチン候補株に関する情報として報告した。[信澤枝里、浅沼秀樹、白倉雅之、田代真人]

11. 組織培養型インフルエンザワクチン製造に用いる種ウイルス分離用培養細胞株の選定に関する国際共同研究への参画

組織培養型インフルエンザワクチン製造に用いる種ウイルス分離用培養細胞株選定のため、多くの国の国立研究機関やワクチンメーカーが参画して国際共同研究が行なわれている。当センターもこの共同研究機関の一員として、ウイルスを培養細胞で分離した後、鶏卵で継代した株の遺伝子解析ならびに抗原性解析を実施した。解析結果は参画共同研究機関の間で共有し、細胞株選定の一助とした。[原田勇一、高橋 仁、中村一哉、浜本いつき、板村繁之、田代真人、山本典生]

12. インフルエンザワクチンの品質管理に関する WHO 関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

10月、2月に開催されたWHOのインフルエンザワクチン株選定会議に出席し、次シーズンのワクチン株選定に基づきワクチン候補株の準備状況とワクチンの品質管理試験に使用する標準抗原等の作製準備について協議した。また、WHO ERLの一員として7月、2月に英国で開催されたインフルエンザワクチンの品質管理に関する国際会議に出席し、ワクチンの品質管理における課題等について協議した。さらに7月にカナダで開催されたWHO、米国FDA、ヘルスカナダ共催のインフルエンザワクチンの力価試験の代替法に関する会議に出席し、

そこで提案された品質管理試験法の改良について検討を始めた。[板村繁之、嶋崎典子、佐藤佳代子、原田勇一、高橋 仁、河野直子、田代真人]

## 研修業務

1. WHO-SEARO インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス技術研修会

WHO-SEARO からの要請を受けて、2010年8月にタイのNational Influenza Center で開催されたインフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス技術研修会に講師として参加した。本研修会へはWHO 南東アジア地域から11カ国が参加し、薬剤耐性株サーベイランスに関する講義およびリアルタイムRT-PCR法、シーケンス法、抗インフルエンザ薬感受性試験等の検査法の実習が行われた。[高下恵美]

2. 地方衛生研究所への技術研修

国内におけるインフルエンザウイルスサーベイランスに関する技術向上を図るため、技術研修希望のあった奈良県保健環境研究センターのウイルス担当職員1名を感染研に招聘し、細胞培養およびウイルス培養技術の研修を行った。[岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、高下恵美、藤崎誠一郎、小田切孝人、田代真人]

3. 海外からの研修生への技術研修 (1)

WHO協力センターとして、他の国への技術をサポートするため、2010年7月1-23日、ベトナムNICのスタッフ1名を受け入れ、インフルエンザの診断および株サーベイランスによく使われている抗原性解析法等の研修を行った。[徐紅、岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、小田切孝人、田代真人]

4. 台湾疾病管制局(台湾CDC)からの研修生への研修・指導 (2)

平成22年10月に台湾CDCより技術習得に訪れた研修生に対し、遺伝子解析に関する一連の技術講習として、ウイルスからのRNA抽出、RT-PCR法、シーケンシング、塩基配列のアライメント作成、および遺伝子系統樹解析法、PCR検査法について説明を行った。さらに、ウイルス抗原性解析や株サーベイランスネットワークについて講義、研修を実施した。[藤崎誠一郎、徐紅、岸田典子、高下恵美、中内美名、

高山郁代、影山 努、小田切孝人、田代真人、山下和代\* : \*  
情報センター]

#### 5. 新型インフルエンザウイルスに関する研修、講義

毎年 10 月に感染研で実施される医師卒後臨床研修で新型インフルエンザウイルスの性状、ワクチンの効果、今後の流行の見通し等について研修生へ講義した。また、早稲田大学大久保キャンパスで例年実施されている『レギュラトリーサイエンス教育講座』で一般市民へ同様の講義を行った。[小田切孝人]

#### 6. 検疫所へのインフルエンザウイルスの遺伝子検出および亜型同定法についての診断検査技術研修

主要検疫所 13 ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、リアルタイム RT-PCR 検査を中心とした A 型インフルエンザウイルスの亜型同定法に関する診断検査技術研修を行った。研修後はそれぞれの検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で反映されるように連携の強化が図られた。  
[影山 努、中内美名、高山郁代、松井清彦]

7. 平成 22 年度短期研修ウイルス研修において、インフルエンザウイルスの遺伝子検出および亜型同定法に関する診断検査技術研修を行った。[影山 努、中内美名、高山郁代、松井清彦]

8. 平成 22 年度希少感染症診断技術研修会において A/H1N1pdm タミフル耐性株迅速検出法および流行状況に関する講義を行った。[中内美名、江島美穂、高下恵美、影山 努、小田切孝人]

### その他

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) T.Shiino, N.Okabe, Y.Yasui, T.Sunagawa, M.Ujike, M.Obuchi, N.Kishida, H.Xu, E.Takashita, A.Anraku, R.Ito, T.Do, M.Ejima, H.Sugawara, H.Horikawa, S.Yamazaki, Y.Kato, A.Oguchi, N.Fujita, T.Odagiri, M.Tashiro, and H.Watanabe. Molecular evolutionary analysis of the influenza A(H1N1)pdm,

May-September, 2009: temporal and spatial spreading profile of the viruses in Japan. PLoS One. 5: e11057, 2010

- 2) Y.Matsuzaki, K.Mizuta, E.Takashita, M.Okamoto, T.Itagaki, F.Katsushima, Y.Katsushima, Y.Nagai, and H.Nishimura. Comparison of virus isolation using the Vero E6 cell line with real-time RT-PCR assay for the detection of human metapneumovirus. BMC Infectious Diseases. 10: 170, 2010
- 3) M.Okamoto, K.Sugawara, E.Takashita, Y.Muraki, S.Hongo, H.Nishimura and Y.Matsuzaki. Longitudinal course of human metapneumovirus antibody titers and reinfection in healthy adults. Journal of Medical Virology. 82: 2092-2096, 2010
- 4) Ichinohe T, Aina A, Nakamura T, Akiyama Y, Maeyama JI, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Tamura SI, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by an intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia. J Med Virol. 82(1):128-37. 2010
- 5) Barr IG, McCauley J, Cox N, Daniels R, Engelhardt OG, Fukuda K, Grohmann G, Hay A, Kelso A, Klimov A, Odagiri T, Smith D, Russell C, Tashiro M, Webby R, Wood J, Ye Z, Zhang W; Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2009-2010. Epidemiological, antigenic and genetic characteristics of seasonal influenza A(H1N1), A(H3N2) and B influenza viruses: basis for the WHO recommendation on the composition of influenza vaccines for use in the 2009-2010 Northern Hemisphere season. Vaccine. 2010 Feb 3;28(5):1156-67. Epub 2009 Dec 9.
- 6) Matsuzaki Y, Mizuta K, Aoki Y, Suto A, Abiko C, Sanjoh K, Sugawara K, Takashita E, Itagaki T, Katsushima Y, Ujike M, Obuchi M, Odagiri T, Tashiro M. A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir. Virol J. 2010 Mar 5;7(1):53
- 7) M.Ujike, K.Shimabukuro, K. Mochizuki, M.Obuchi, T. Kageyama, M. Shirakura, N. Kishida, K. Yamashita, H.Horikawa, Y.Kato, N. Fujita, M. Tashiro, T.Odagiri, and the Working Group for Infl uenza Virus Surveillance in Japan Oseltamivir-Resistant Infl uenza Viruses A (H1N1) during 2007–2009 Infl uenza Seasons, Japan Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 16, No. 6, 926-935, 2010
- 8) Ikeno D, Kimachi K, Kino Y, Harada S, Yoshida K, Tochihara S, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Okada K, Miyazaki C, Ueda K.

- Immunogenicity of an inactivated adjuvanted whole-virion influenza A (H5N1, NIBRG-14) vaccine administered by intramuscular or subcutaneous injection. *Microbiol Immunol.* 2010 Feb;54(2):81-8.
- 9) Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzaki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus. *J Med Virol.* 2010 Oct;82(10):1754-61.
- 10) Y.Iwai, H.Takahashi, D.Hatakeyama, K.Motoshima, M. Ishikawa, K.Sugita, Y.Hashimoto, Y.Harada, S.Itamura, T.Odagiri, M.Tashiro, Y.Sei, K.Yamaguchi and T.Kuzuhara  
Anti-influenza activity of phenethylphenylphthalimide analogs derived from thalidomide *Bioorganic & Medicinal Chemistry* Volume 18, Issue 14, 15 July 2010, Pages 5379-5390
- 11) T.Furukawa, Y.Muraki, T.Noda, E.Takashita, R.Sho, K.Sugawara, Y.Matsuzaki, Y.Shimotai and S.Hongo. Role of the CM2 Protein in the Influenza C Virus Replication Cycle. *Journal of Virology.* 85: 1322-1329, 2011
- 12) M.Ujike, M.Ejima, A.Anraku, K.Shimabukuro, M.Obuchi, N.Kishida, X.Hong, E.Takashita, S.Fujisaki, K.Yamashita, H.Horikawa, Y.Kato, A.Oguchi, N.Fujita, M.Tashiro, T.Odagiri and Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009-2010. *Emerging infectious diseases.* 17: 470-479, 2011
- 13) M.Nakauchi, M.Ujike, M.Obuchi, E.Takashita, I.Takayama, M.Ejima, K.Oba, N.Konomi, T.Odagiri, M.Tashiro, T.Kageyama and the influenza virus surveillance group of Japan. Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. *Journal of Medical Virology.* 83: 1121-1127, 2011
- 14) Nongluk Sriwilajaroen, A.Kadowaki, Y. Onishi, N. Gato, M.Ujike, T. Odagiri, M.Tashiro, Y.Suzuki.  
Mumefuralandrelated HMF derivatives from Japanese apricot fruitjuice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic in fluenza A(H1N1) virus *Food Chemistry* 127, 1-9, 2011
- 15) K.Fukuzawa, K.Omagari, K.Nakajima, E.Nobusawa, S.Tanaka. Sialic acid recognition of the pandemic influenza 2009 H1N1 virus:binding mechanism between human receptor and influenza hemagglutinin. *Protein and Peptide letters.* 18, 530-539, 2011
- 16) Yoshioka A, Fukuzawa K, Mochizuki Y, Yamashita K, Nakano T, Okiyama Y, Nobusawa E, Nakajima K, Tanaka S. Prediction of probable mutations in influenza virus hemagglutinin protein based on large-scale ab initio fragment molecular orbital calculations. *Journal of Molecular Graphics and Modeling* 2011 (in press)
- 17) Katano H, Kano M, Nakamura T, Kanno T, Asanuma H, Sata T. A novel real-time PCR system for simultaneous detection of human viruses in clinical samples from patients with uncertain diagnoses. *J Med Virol.* 83: 322-330. 2011
- 18) Sakamoto K, Asanuma H, Nakamura T, Kanno T, Sata T, Katano H. Immune response to intranasal and intraperitoneal immunization with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in mice. *Vaccine* 26:3325-3332, 2010
- 19) Takahashi H, Akazawa D, Kato T, Date T, Shirakura M, Nakamura N, Mochizuki H, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Suzuki T, Wakita T. Biological properties of purified recombinant HCV particles with an epitope-tagged envelope. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 395(4):565-571, 2010.
- 20) Haga S, Nagata N, Okamura T, Yamamoto N, Sata T, Yamamoto N, Sasazuki T, Ishizaka Y. TACE antagonists blocking ACE2 shedding caused by the spike protein of SARS-CoV are candidate antiviral compounds. *Antiviral Research.* 85(3):551-5, 2010
- 21) Sugiyama R, Hayafune M, Habu Y, Yamamoto N, Takaku H. HIV-1 RT-dependent DNAzyme expression inhibits HIV-1 replication without the emergence of escape viruses. *Nucleic Acids Res.* 2010 Sep 9. [Epub ahead of print] 2011 Jan;39(2):589-98
- 22) Yamazaki T, Nagashima M, Ninomiya D, Arai Y, Teshima Y, Fujimoto A, Ainai A, Hasegawa H, Chiba J. Passive immune-prophylaxis against influenza virus infection by the expression of neutralizing anti-hemagglutinin monoclonal antibodies from plasmids. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(1):40-9.
- 23) Ainai A, Tashiro M, Hasegawa H. Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal

- vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. *Human Vaccines*. 2011 Jan;7(Supplement):174-182.
- 24) Isawa H, Kuwata R, Hoshino K, Tsuda Y, Sakai K, Watanabe S, Nishimura M, Satho T, Kataoka M, Nagata N, Hasegawa H, Bando H, Yano K, Sasaki T, Kobayashi M, Mizutani T, Sawabe K. Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from *Culex* mosquitoes in Japan. *Virus Res*. 2011 Jan;155(1):147-55.
- 25) El Hajj H, El-Sabban M, Hasegawa H, Zaatari G, Ablain J, Saab ST, Janin A, Mahfouz R, Nasr R, Kfoury Y, Nicot C, Hermine O, Hall W, de Thé H, Bazarbachi A. Therapy-induced selective loss of leukemia-initiating activity in murine adult T cell leukemia. *J Exp Med*. 2010 Dec 20;207(13):2785-92.
- 26) Kawaguchi A, Suzuki T, Kimura T, Sakai N, Ayabe T, Sawa H, Hasegawa H. Functional analysis of an alpha-helical antimicrobial peptide derived from a novel mouse defensin-like gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Aug 6;398(4):778-84.
- 27) Watters KM, Dean J, Hasegawa H, Sawa H, Hall W, Sheehy N. Cytokine and growth factor expression by HTLV-1 Lck-tax transgenic cells in SCID mice. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010 May;26(5):593-603.
- 28) Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T. Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. *PLoS One*. 2010 Apr 23;5(4):e10256.
- 29) Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. *PLoS Pathog*. 2010 Apr 1;6(4):e1000832.
- 30) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. *Intern Med*. 2010;49(5):491-5.
- 31) Nakauchi M, Yoshikawa T, Nakai H, Sugata K, Yoshikawa A, Asano Y, Ihira M, Tashiro M, Kageyama T. Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. *J Med Virol*. 83(1):10-15, 2010.
- 32) Nakauchi M, Yasui Y, Miyoshi T, Minagawa H, Tanaka T, Tashiro M, Kageyama T. One-step real-time reverse transcription-PCR assays for detecting and subtyping pandemic influenza A/H1N1 2009, seasonal influenza A/H1N1, and seasonal influenza A/H3N2 viruses. *J Virol Methods*. 171(1):156-162, 2011.
2. 和文発表
- 1) 高下恵美 インフルエンザワクチンの検定について *インフルエンザ* 11: 276-280, 2010
- 2) 高下恵美 海外文献紹介 インフルエンザ 11: 290-291, 2010
- 3) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代真人、小田切孝人、川上千春、百木智子、七種美和子、宇宿秀三、野口有三、池淵守、田代好子、上原早苗、高野つる代、蔵田英志、岩田眞美、椎葉桂子、修理淳、豊澤隆弘 ペラミビル治療患者からの H275Y 耐性ウイルス検出事例報告 *病原微生物検出情報* 32: 76-78, 2011
- 4) 山本典生, 中村一哉, 浜本いつき, 田代真人 パンデミックインフルエンザ(H1N1)2009 に対するワクチンの評価と新ワクチン開発に向けた展望 *公衆衛生*, 74(8):681-686, 2010
- 5) 山本典生, 田代真人 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターについての紹介 *医学のあゆみ* 232(13): 1230-1232, 2010
- 6) 浅沼秀樹、相内 章、田代真人 新型インフルエンザの登場とその病原性 感染・炎症・免疫 (医薬の門社/羊土社)巻40(3): 256-266, 2010
- 7) 信澤枝里、板村繁之: 新型インフルエンザに対するワクチン開発. *呼吸器内科* 17:51-57, 2010
- 8) 佐藤佳代子、板村繁之 インフルエンザワクチンの開発動向と今後の展望 *日本臨床* 68:1697-1701, 2010
- 9) 信澤枝里 新型インフルエンザの流行状況—抗体調査成績から *インフルエンザ* 12: 49-56, 2011

- 10) 吉川哲史, 中井英剛, 菅田健, 吉川明子, 浅野喜造, 井平勝, 影山努, 中内美名, 仙波晶平, 森安義, 神田秀俊, 納富継宣. RT-LAMP 法による A 型および新型インフルエンザウイルス(AH1 pdm)検出の臨床的検討. 診療と新薬. 48(1):19-26(2011)
  - 11) 影山 努. 動物の感染症から学ぶ(Vol.2) ヒトに感染するインフルエンザウイルスの出現. 医学のあゆみ. 234(4):308-312(2010)
  - 12) 横田(恒次)恭子, 影山 努. 免疫学的検査 感染症関連検査(抗原および抗体を含む)ウイルス感染症 ブタ由来インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm). 日本臨床. 68(3):385-388(2010)
  - 13) 影山 努. インフルエンザ流行の歴史と 2009 年に出現した新型インフルエンザウイルスについて. 化学と教育. 58(11):498-501(2010)
  - 14) 岸田典子 新型インフルエンザ Annual Review 2011 呼吸器 106-110, 2011
- II. 学 会 発 表
1. 国際学会
  - 1) T. Odagiri Finding of influenza virus surveillance in 2009/10 season in Northern Hemisphere 4<sup>th</sup> Meeting of National Influenza Centers in the Western Pacific Region, Manila.May 2010.
  - 2) E.Takashita, K.Sugawara, Y.Matsuzaki, S.Hongo, H.Goto, Y.Kawaoka and E.Nobusawa. Compatibility between hemagglutinin and neuraminidase affects the growth of H3N2 influenza A viruses. 14th International Negative Strand Virus Meeting, Bruges, Belgium, June 2010.
  - 3) E.Takashita. Global influenza drug resistance monitoring. Regional workshop on monitoring of drug resistance in influenza viruses, Bangkok, Thailand, August 2010.
  - 4) E.Takashita, M.Ujike, M.Ejima, S.Fujisaki, M.Obuchi, N.Kim, N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Itoh, T.Do, M.Tashiro and T.Odagiri. Detection and characterizations of oseltamivir-resistant pandemic influenza A/H1N1 2009 viruses in the 2009/10 season in Japan. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.
  - 5) M.Nakauchi, T.Kageyama, M.Ujike, M.Obuchi, E.Takashita, T.Odagiri, M.Tashiro, K.Oba, N.Konomi and the working group for influenza virus surveillance in Japan. A rapid genotyping of oseltamivir-resistant or -susceptible pandemic A/H1N1 2009 influenza viruses by duplex RT-PCR assay. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.
  - 6) N.Kishida, X.Hong, E.Takashita, M.Obuchi, S.Fujisaki, M.Ujike, R.Ito, T.Do, H.Sugawara, M.Ejima, N.Kim, Y.Ami, Y.Suzaki, K.Yamashita, Y.Yasui, Y.Tada, N.Okabe, M.Tashiro and T.Odagiri. Characterizations of influenza viruses isolated during the 2009/10 season in Japan and neighboring countries. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.
  - 7) T.Furukawa, Y.Muraki, K.Sugawara, Y.Matsuzaki, E.Takashita, Y.Shimotai and S.Hongo. The role of the CM2 protein in the influenza C virus replication. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.
  - 8) S.Hongo Y.Muraki, T.Furukawa, Y.Kohno, Y.Matsuzaki, E.Takashita, Y.Shimotai and K.Sugawara. Influenza C virus NS1 protein up-regulates viral mRNA splicing. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.
  - 9) J Zhou, Z Li, S Zou, M Wang, J Dong, J Guo, H Wei, L Wen, H Xu, Y Shu. Identification of Two Receptor-binding Specific Strains of Human H5N1. Options for the Control of Influenza VII. P-754. Hong Kong SAR, China. 3-7 Septemer 2010.
  - 10) T. Odagiri, E. Takashita, S. Fujisaki, N. Kishida, H. Xu, M. Ejima, N. Kim, R. Ito, T. Doi, H. Sugawara, M. Nakauchi, I. Takayama, T. Kageyama, M. Tashiro Monitoring and characterizations of antiviral drug resistant pandemic A/H1N1 influenza viruses in Japan 3<sup>rd</sup> Meeting with National Influenza Centers (NIC) on Strengthening the WHO Global Influenza Surveillance Network (GISN) Tunisia, November 2010.
  - 11) Shirakura M, Nobusawa E, Asanuma H, Kishida N, Aina A, Iwata N, Nagata N, Hasegawa H, Kageyama T, Odagiri T, Tashiro M. Generation of the novel H1N1 influenza vaccine seed virus by reverse genetics. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, Sep., 2010.
  - 12) E.Nobusawa, K.Nakajima, K.Omagari, S.Nakajima

- Mechanism for Selection of Antigenic Variants in the Presence of Human Sera. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong SAR, China. Sep 3-7, 2010.
- 13) H.Asanuma, S.Sekine, Y.Suzuki, T. Sata, M.Tashiro, K. Fujihashi Nasal Influenza Vaccines Containing pFL and CpG ODN As Mucosal Adjuvant Elicit Cross-Reactive Functional S-IgA Antibody International Congress of Immunology, Kobe, Aug, 2010.
- 14) S.Sekine, R.Kobayashi, M.Sasaki, Y.Fukuyama, H. Asanuma, Rebekah S. Gilbert, K.Fujihashi, K.Kataoka and K.Fujihashi Characterization of Mucosal Immunosenescence in Nasopharyngeal-Associated Lymphoreticular Tissue International Congress of Immunology, Kobe Aug,2010.
- 15) A.Ainai, R.Ito, H.Asanuma, J.Chiba, S. Tamura, T.Sata, M.Tashiro, and H.Hasegawa Zymosan increases the production of secretory IgA antibodies against influenza virus by enhancing the mucosal adjuvant activity. 14<sup>th</sup>International Congress of Immunology, Kobe Aug, 2010.
- 16) Y. Harada, H. Takahashi, B. Roth, K. Schwarz, V. Horn, B. Grafelmann, R. Wipraechtger, N. Yamamoto, K. Nakamura, I. Hamamoto, T. Odagiri, S. Itamura, H. Trusheim, S. Blayer, T. Tsai, K. Mizuta, A. Hirata and M. Tashiro. An evaluation of candidate cell lines to isolate influenza virus for cell based influenza vaccine Options for the Control of Influenza VII. Hong Kong SAR, China. 6 September 2010
- 17) H.Hasegawa, A.Ainai, N.Nagata, N.Iwata, Y.Ami, S.Tamura, T.Tanimoto, T.Odagiri, M.Tashiro, T.Sata, and T.Kurata, Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist protects cynomolgus monkey against HPIV challenge. Options for the control of influenza VII., Hong-Kong, China. September 2009
- 18) A.Ainai, R.Ito, H.Asanuma, T.Suzuki, T.Tanimoto, T.Odagiri, S.Tamura, T.Sata, M.Tashiro, and H.Hasegawa, Intranasal administration of seasonal influenza vaccine is effective for the reduction of infected pandemic A(H1N1) 2009 virus. Options for the control of influenza VII. Hong-Kong, China. September 2009.
- 19) N.Nakajima, Y.Sato, H.Katano, H.Hasegawa, and T.Sata, Pathological findings of autopsy cases infected with 2009 pandemic influenza A virus in Japan. Options for the control of influenza VII. Hong-Kong, China. September 2009.
- 20) K. Sato, H. Asanuma, T. Matsukura, N. Matsumoto, M. Tashiro. KLRG1 expression in the lungs by influenza A virus infection in mice. 14th International congress of immunology, Kobe, August 2010.
- 21) K. Sato, S. Itamura, M. Tashiro. Development of quantitative ELISA for influenza virus haemagglutinin for the use of quality control test of inactivated influenza split-virus vaccine. Options for the control of influenza VII, Hong Kong, September 2010.
- 22) N. Kono, Y. Harada, T. Odagiri, M. Tashiro and S. Itamura. Inter-laboratory reproducibility of single-radial-immunodiffusion assay for measuring HA content in the influenza vaccine during 9-year seasons from 2001 to 2009 in Japan. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.
- 23) M.Nakauchi, T.Kageyama, M.Ujike, M.Obuchi, E.Takashita, T.Odagiri, M.Tashiro, K.Oba, N.Konomi, and the working group for influenza virus surveillance in Japan.: A rapid genotyping of oseltamivir-resistant or susceptible pandemic A/H1N1 2009 influenza viruses by duplex RT-PCR assay. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, 3-7 September 2010.
- 24) T.Kageyama, M.Nakauchi, T.Yoshikawa, H.Nakai, K.Sugata, A.Yoshikawa, Y.Asano, M.Ihira, M.Tashiro, Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, 3-7 September 2010.
2. 国内学会
- 1) 小田切孝人 新型インフルエンザ A/H1N1 ウイルスとワクチン製造、接種戦略 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会 京都、2010 年 4 月

- 2) 高下恵美、氏家誠、江島美穂、小淵正次、安楽 茜、岸田典子、徐 紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代真人、小田切孝人、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスワーキンググループ : わが国の抗インフルエンザ薬耐性株の検出状況と新規薬剤耐性株サーベイランス系の構築について 衛生微生物技術協議会第 31 回研究会、鹿児島、2010 年 5 月
- 3) 小田切孝人 新型インフルエンザウイルスの特徴 第 51 回日本臨床ウイルス学会 高松、2010 年 6 月
- 4) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、本村和嗣、佐藤 彩、佐藤裕徳、氏家 誠、小淵正次、田代真人、小田切孝人、全国地方衛生研究所 : 2009/10 シーズンにおける抗インフルエンザ薬剤耐性 pandemic A/H1N1 株の検出と新規薬剤ペラミビルに対する交叉耐性 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 5) 浅沼秀樹、信澤枝里、白倉雅之、許斐奈美、山本典生、中内美名、網康至、長谷川秀樹、相内 章、高下恵美、小淵正次、徐紅、岸田典子、小田切孝人、田代真人 : 新型インフルエンザウイルス (H1N1pdm) の増殖性に関する検討 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 6) 岸田典子、徐 紅、高下恵美、藤崎誠一郎、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金南希、本村和嗣、佐藤 彩、佐藤裕徳、網 康至、須崎百合子、小口晃央、山崎秀司、藤田信之、小淵正次、氏家 誠、田代真人、小田切孝人、全国地方衛生研究所 : 2009/10 シーズンのインフルエンザ流行株と平成 22 年度のワクチン株 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 7) 中内美名、高山郁代、高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金 南希、氏家 誠、小淵正次、大場邦弘、許斐奈美、小田切孝人、田代真人、影山 努、全国地方衛生研究所 : A/H1N1pdm タミフル耐性株の迅速検出法の開発 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 8) 信澤枝里、中島捷久、尾曲克己、中島節子 インフルエンザウイルス抗原変異出現のメカニズム 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 9) 伊藤 良、相内 章、浅沼 秀樹、鈴木忠樹、千葉 丈、田村慎一、田代真人、佐多徹太郎、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンにおける抗原性の異なる株による追加免疫時の免疫応答の解析 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 10) 相内 章、伊藤 良、浅沼秀樹、鈴木忠樹、谷本武史、小田切孝人、田村慎一、佐多徹太郎、田代真人、長谷川秀樹 2009/10 季節性インフルエンザワクチンの経鼻投与による A/H1N1 pdm ウイルスの感染阻害効果の検討 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 11) 柳田浩志、松元輝礁、山本典生、原崎一浩、佐藤人美、山本陽子、高久洋、高橋仁、原田勇一、中村一哉、浜本いつき、田代真人、星野忠次 : 新規インフルエンザウイルス感染阻害化合物の探索と合成。日本薬学第 131 年会、31Y-am05、静岡、2011 年 3 月
- 12) 山本典生、柳田浩志、原崎一浩、佐藤人美、山本陽子、高久 洋、高橋 仁、原田勇一、中村一哉、浜本いつき、田代真人、星野忠次 新規インフルエンザウイルス感染阻害化合物の計算機探索 Identification of novel anti-influenza virus compounds by computational screening 第 33 回日本分子生物学会 神戸、2010 年 12 月
- 13) 長谷川秀樹、相内 章、網 康至、永田典代、田村慎一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎 隆、小田切孝人、田代真人、倉田 毅、佐多徹太郎 : 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンによるブースター効果と高病原性 H5N1 ウイルスの感染防御の検討 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 14) 山崎達也、二宮大輔、長島麻里亜、荒井由佳、手嶋保智、相内 章、長谷川秀樹、藤本 陽、千葉 丈 : インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた遺伝子治療による感染と重症化の阻止 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 15) 永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、佐藤由子、森川 茂、佐多徹太郎 : SARS 発症マウスモデルにおける IFN- $\gamma$  の投与効果 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 16) 岩田奈緒子、永田典代、辻 隆裕、長谷川秀樹、佐藤由

- 子、横田恭子、宇田晶彦、水谷哲也、西條政幸、森川 茂、佐多徹太郎：SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応について 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 17) 酒井宏治、田丸精治、前田 健、永田典代、網 康至、岩田奈緒子、鈴木忠樹、水谷哲也、福士秀悦、須崎百合子、緒方もも子、長谷川秀樹、西條政幸、山田靖子、倉根一郎、森川 茂：カニクイザルで致死感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスのサルおよびイヌでの病原性の解析 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 18) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹、佐多徹太郎：日本の 2009 年 H1N1 新型インフルエンザウイルス感染症剖検例の病理 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
- 19) 相内 章、田村慎一、鈴木忠樹、伊藤 良、浅沼秀樹、谷本武史、五味康行、奥野良信、小田切孝人、田代真人、佐多徹太郎、倉田 毅、長谷川秀樹：インフルエンザワクチン経鼻接種による成人での血清および鼻腔洗浄液中のウイルス特異的中和抗体の評価 第 14 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010 年 12 月
- 20) 谷本武史、高野大輔、森本孝一、五味康行、長谷川秀樹、田村慎一、宮崎 隆、真鍋貞夫、石川豊数、奥野良信：経鼻インフルエンザワクチンによる免疫獲得効果検討 第 14 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010 年 12 月
- 21) 長谷川秀樹、相内 章、網 康至、永田典代、田村慎一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎 隆、小田切孝人、田代真人、倉田 毅、佐多徹太郎：経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンによる高病原性 H5N1 ウイルスの感染防御と交叉防御の検討 第 14 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010 年 12 月
- 22) 森 安義、仙波晶平、富田憲弘、神田秀俊、納富継宣、影山 努、中内美名。遺伝子迅速診断としての LAMP 法。第 51 回日本臨床ウイルス学会、高松、2010 年 6 月
- 23) 仙波晶平、森 安義、富田憲弘、神田秀俊、納富継宣、影山努、中内美名。LAMP 法を用いたインフルエンザウイルスの簡易迅速遺伝子検査法。第 17 回日本遺伝子診療学会大会、津、2010 年 8 月
- 24) 影山 努、中内美名、田代真人、吉川哲史、中井英剛、菅田健、吉川明子、浅野喜造、井平勝。Direct RT-LAMP 法を用いたインフルエンザウイルス A/H1N1pdm 検出法の開発。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

