

## 21. インフルエンザウイルス研究センター

センター長 小田切 孝人

### 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対策への支援と緊急対応体制の強化、WHO インフルエンザ協力センターとして海外情報の収集機能の強化、東アジア地域を包括したサーベイランス網の活性化と技術支援および WHO 世界インフルエンザ監視対応機構の運営への参画、及びワクチン製剤の品質管理体制の維持と改善などをめざして、平成 21 年 4 月 1 日に 6 室体制（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)) で発足した。

人事異動では、平成 28 年 4 月 1 日付けで齊藤慎二が任期付研究員に採用された。また、浅沼秀樹室長・白倉雅之・高橋仁主任研究官・有田知子研究員の併任が解除となった。平成 28 年 10 月 1 日付けで鈴木康司が研究員として採用された。

研究開発業務としては、ノイラミニダーゼ阻害薬に対する耐性株のサーベイランス体制に加えて、新たに認可されたポリメラーゼ阻害剤に対する耐性株サーベイランスも可能となる体制構築に着手し、本剤の感受性試験系を完成させた。ワクチン製造用に採用できる国内分離株の安定供給をめざして、当センターが確立した細胞培養ワクチン種株分離用細胞 (NIID-MDCK 細胞) による分離、その後に発育鶏卵で馴化させたウイルスを恒常的に供給できる体制を構築した。一方、ウイルス感染診断系の改良を行い、RT-LAMP 法を用いた複数の呼吸器感染症ウイルスの同時検出系の構築およびイムノクロマト法による A(H7N9)迅速診断キットの開発を行った。

ワクチンに関する研究としては、ワクチン接種後のヒト血清を流行株の抗原性解析へ応用し、2009 年以来抗原変異していなかった A(H1N1)pdm09 流行株が、最近ではドリフトしていることを捉え、WHO および国内で採用

された本亜型ワクチン株の変更に貢献した。

平成 27 年度から導入された 4 価のインフルエンザ HA ワクチンの B 型 2 系統のワクチン力価を正確に測定するため、モノクローナル抗体による測定系の開発を行った。さらに、平成 30 年度に導入が予定されている弱毒生ワクチンの力価測定系の開発にも着手し、承認後の国家検定を支援する準備を進めた。

一方、細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けて、NIID-MDCK 細胞で分離したワクチン種ウイルスの品質試験として迷入ウイルス否定試験系を完成させた。さらに、他の呼吸器感染症ウイルスがワクチン種ウイルスに共存した場合に備えて、NIID-MDCK 細胞の混在ウイルスの浄化能を評価した。また、高増殖性の細胞培養ワクチン種ウイルスを供給できるように、高増殖性母体ウイルスの開発を完了した。一方、次世代のインフルエンザワクチンとして開発を進めている経鼻粘膜ワクチンの評価系となる粘膜抗体測定法の樹立を進めた。

流行動向調査 (サーベイランス) およびレファレンス業務では、地衛研、感染症疫学センターと連携して、国内および周辺諸国から流行株を収集し、それらの抗原性・遺伝子解析、薬剤感受性試験などを実施し、解析結果を感染症疫学センター HP を通じて週ごとに情報還元した。これらの解析情報をもとに次シーズン向けのワクチン候補株の検索を行い、WHO ワクチン推奨株など海外情報も考慮して平成 28 年度のワクチン株の選定を行った。また、各地衛研におけるサーベイランス検査の精度を再確認し、高い精度を維持するため、本年度から国の事業となった PCR 検査の外部精度管理を全国地衛研に実施し、評価成績に応じて個別に技術改善への助言を行った。これと並行して、全国地衛研におけるウイルス分離・培養の精度の改善に向けた実態調査を実施した。また、将来的に RT-PCR による薬剤耐性株検出検査の精度管理試験を全国規模で実施することを計画している。このため、事前準備として、11 か所のレファレンス地衛

研を対象に精度管理試験を実施した。

最近の A(H3N2)ウイルスの性状変化により、従来の手法（赤血球凝集抑制試験）では抗原性解析が困難になっている。この問題を解決するために、中和試験法を新たに導入し、その精度をさらに改善するため、感染細胞巢減数試験法を構築した。また、この系を機械化し、効率的なサーベイランス業務の運用体制を確立した。

新型インフルエンザ対策の一環として、動物由来（鳥およびブタ）インフルエンザウイルスの監視、分離株の収集を進め、ウイルス系統保存バンクの強化を図った。

国際協力関係では、世界インフルエンザ監視対応体制（GISRS）の基幹である WHO インフルエンザ協力センターとして、周辺諸国と連携したサーベイランス活動を行った。それらの解析情報は南北半球向けの WHO ワクチン株推奨会議で議論され、WHO ワクチン推奨株の選定に貢献した。また、WHO の各種技術系検討会議、ワクチン品質管理関連会議、政策会議にそれぞれ参画し、WHO インフルエンザ協力センターとしての役割を果たした。

諸外国への技術支援活動としては、ネパールのインフルエンザセンターから担当者を当センターに招聘して、サーベイランス技術全般の研修を実施した。また、ベトナム、モンゴルに職員をそれぞれ派遣して、現地における感染診断検査やサーベイランスに関する技術指導を行った。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから 7 年が経過し、研究業務およびセンター通常業務は円滑に実施されている。現在、パンデミックポテンシャルの高い A(H7N9)ウイルスの流行が中国で続いていることから、国のパンデミック対策の中核機関として緊急危機対応に迅速に対処できるように、基礎研究、ワクチン開発等の研究活動をさらに推進し、また、センター機能を適切に維持するため、引き続き適正な人材の確保、若手研究者の育成に力を入れていきたい。

## 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. 日本国内で検出されたインフルエンザ A(H1N1)pdm09 二重耐性変異ウイルスの性状解析

2016年3月に広島県で薬剤耐性変異を二重に有し抗インフルエンザ薬に強い耐性を示すインフルエンザ A(H1N1)pdm09 ウイルスが検出された。このウイルスは免疫抑制状態の患者にペラミビルを単独あるいはオセルタミビルとの併用で連日投与した後に検出され、NA 蛋白質に、H275Y 耐性変異に加えて G147R 耐性変異もっていた。H275Y/G147R 二重耐性変異ウイルスはオセルタミビルとペラミビルに強い耐性を示し、ザナミビルに対する感受性も低下していた。免疫抑制患者では薬剤の選択圧による耐性ウイルス出現のリスクが高いことが知られており、検出された H275Y/G147R 二重耐性変異ウイルスは、薬剤の投与によって患者の体内で選択的に生き残った可能性が考えられる。[高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、島津幸枝\*、下村壮司\*\*、小川理恵、三浦秀佳、菅原裕美、佐藤 彩、秋元未来、渡邊真治、小田切孝人：\*広島県立総合技術研究所保健環境センター、\*\*広島西医療センター]

2. 新規抗インフルエンザ薬ファビピラビル投与前後の患者から検出されたインフルエンザウイルスの薬剤感受性に関する研究

新規抗インフルエンザ薬ファビピラビルについて、耐性ウイルスの検出系を構築した。この系では、インフルエンザウイルスによる細胞変性効果（Cytopathic effects; CPE）をもとにウイルスの増殖能を測定し、50% Effective Concentration (EC50)値を指標として、ファビピラビル耐性ウイルスを検出する。構築した検出系を用いて、ファビピラビル投与前後の患者から検出された 57 組の A(H1N1)pdm09、A(H3N2)および B 型ウイルスについて薬剤感受性を調べた。その結果、4 組のウイルスでファビピラビル投与後に PB1、PB2 あるいは PA 蛋白質にアミノ酸変異が検出されたが、ファビピラビルの感受性の低下は認められなかった。[高下恵美、江島美穂、小川理恵、藤崎誠一郎、Gabriele Neumann\*、古田要介\*\*、河岡義裕\*\*\*、田代真人、小田切孝人：\*University of Wisconsin-Madison、\*\*富山化学工業、\*\*\*東京大学医科学研究所]

3. ネパールで大流行を起こした A(H1N1)pdm09 ウイルスの遺伝学的特徴

2015年4、5月期にネパールで大流行を起こしたA(H1N1)pdm09ウイルスの遺伝学的性状の詳細について解析を行った。これらネパール株の抗原性はワクチン株と類似しており、抗インフルエンザ薬に対しても感受性を保持していたが、HA蛋白質およびNA蛋白質に特徴的な変異が認められた。世界各地の2009年以降の各年代の分離株遺伝子データとの時系列比較解析の結果から、2015/16シーズンに世界的に大規模流行を引き起こした新規の遺伝学的サブクレード群（サブクレード6B.1）の祖先ウイルスであると考えられた。また、これらネパール株の遺伝学的特徴は、ネパールでの大流行に先立って発生していたインドでの大流行に由来する株の一部、さらに前年のネパール分離株にも共通して認められていた。以上の結果から、新たな変異株の出現、維持の場としてネパール、インドといった南アジア地域の寄与が推察され、新規変異株の早期捕捉に、この地域の分離株サーベイランスの積極的展開の重要性が示唆された。[中村一哉、白倉雅之、藤崎誠一郎、岸田典子、David F Burke\*、Derek J Smith\*、桑原朋子、高下恵美、高山郁代、中内美名、Mandeep Chadha\*\*、Varsha Potdar\*\*、Arvind Bhushan\*\*、Bishnu Prasad Upadhyay\*\*\*、Geeta Shakya\*\*\*、菅原裕美、佐藤 彩、小川理恵、三浦秀佳、秋元未来、小田切孝人、影山努、渡邊真治：\*ケンブリッジ大学、\*\*インド国立ウイルス学研究所、\*\*\*ネパール国立公衆衛生研究所]

#### 4. A/Saitama/103/2014 (H3N2)インフルエンザウイルスの性状解析

近年、H3N2ウイルスを鶏卵で分離すると、HAの抗原部位に変異が入るため抗原性が変化し、流行株とワクチン株の抗原性が乖離する現象が起きている。これは、ワクチン株を選定する際の大きな問題となっている。本研究では、ワクチン候補株として分離したA/Saitama/103/2014 (H3N2)株（埼玉株）に着目した。このウイルスは、鶏卵で8代（羊膜腔で4代、漿液膜腔で4代）継代したところ、細胞分離の埼玉株と比較して、NAに10ヶ所の変異を持っていた。一方で、HAには抗原部位ではない場所の1ヶ所にしか変異を持っていなかった。このウイルスのフェレット抗血清を作製し、流行株との反応性を調べたところ、現行のワクチン株よりも流行株と高い反応性を示した。これは、鶏卵分離埼玉株

では、HAの抗原部位に変異が入らなかったためと考えられる。このウイルスを鶏卵で21代まで継代したところ、ワクチン株になり得る程度の鶏卵での増殖効率が見られた。その結果、鶏卵で21代継代した埼玉株（CEXP-002）は、WHOのワクチン株選定会議においてワクチン候補株として承認された。今後、埼玉株の鶏卵における増殖に必須のアミノ酸変異を特定し、その意義について検証する[桑原朋子、中村一哉、岸田典子、白倉雅之、藤崎誠一郎、高下恵美、高橋 仁、秋元未来、小川理恵、佐藤 彩、三浦秀佳、菅原裕美、信澤枝里、渡邊真治、小田切孝人]

#### 5. 動物由来インフルエンザウイルスのレセプター結合特異性に関する研究

現在、主に東南アジアや中近東では高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザA(H5N1)ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。さらに、2013年に発生した鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスは、季節に応じて発生と消失を繰り返している。このような背景から、迅速かつ的確にウイルスの詳細な性状解析を実施し、ヒトへの感染リスク評価を実施することは、重要な意義を持つと考えられる。本研究では、動物由来インフルエンザウイルスのリスク評価のため、合成シアロ糖鎖ポリマーを用いたレセプター結合特異性実験を試みた。昨年度、合成シアロ糖鎖ポリマーを用いたレセプター結合特異性実験を確立した。今年度においては、合成シアロ糖鎖ポリマーの改良を行い、検出感度の向上を試みた。[白倉雅之、小田切孝人、渡邊真治]

#### 6. Direct RT-LAMP法を用いたヒトパラインフルエンザウイルス検出系の改良

ヒトパラインフルエンザウイルス（HPIV）は小児における下気道炎の原因となるウイルスで、RSウイルスに次いで多く検出される。RT-LAMP法を用いたHPIV1の検出系を以前に構築したが、近年の流行株において検出感度の低下が認められた。そのため、RT-LAMP法のプライマーの再設計を行い、以前の系と同等の検出感度を持つ新しい系を構築した。また、この系を用いて、近年の流行株の検出感度の向上が認められることを示した。

[高山郁代、高橋 仁、影山 努]

## 7. Real-time RT-PCR 法を用いた A/H9N2 鳥インフルエンザウイルス検出系の構築

A/H9N2 鳥インフルエンザウイルスは、1998 年にヒト感染例が確認されて以降、散発的にヒトへの感染例が報告されており、このウイルスを由来とするパンデミックの発生が危惧されている。A/H9 ウイルスを特異的に検出できる real-time RT-PCR (rRT-PCR)法を開発した。本 rRT-PCR 法は A/H9N2 ウイルスの合成 RNA において 3.1 copies/reaction の検出感度を持ち、1966 年以降の A/H9 の 14 株の RNA を全て検出可能であった。

[齊藤慎二、高山郁代、中内美名、永田志保、影山 努]

## 8. A/H7N9 鳥インフルエンザウイルス迅速診断法の開発

2013 年 3 月に中国で初めて確認された鳥インフルエンザウイルス A/H7N9 により引き起こされるヒトでの感染症は高い致死性を有し、今後大流行を引き起こす危険性がある。感染拡大を防ぎ適切な治療選択を行う上で、A/H7N9 インフルエンザの迅速診断系は必須である。我々が作製した H7 HA 特異的なモノクローナル抗体を用いて A/H7N9 インフルエンザ検出用のイムノクロマトキットを試作し、その感度と特異性の検討を行った。本キットは A/H7N9 特異的に検出することができたため、本抗体を用いて簡便な迅速診断キットを作製できる可能性を示した。

[齊藤慎二、高橋仁、永田志保、影山 努]

## 9. 呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系の構築

核酸増幅法として知られている RT-LAMP 法を用いて、インフルエンザウイルスを除く呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系を構築し、感染症診断に応用することを目的とした研究を行っている。本年度は検出候補としてライノウイルス C 型を選択し、RT-LAMP 法による検出系の構築を行った。ライノウイルス C 型は分離が難しいため、検出系の検討に用いる分離株を得るのが困難であった。そこで、ヒト気管上皮細胞を用いて条件検討を行い、ライノウイルス C 型の分離培養方法を確立した。今後臨床検体からライノウイルス C 型の分離を行い、検出系の検討に用いることが可能となった。[中内美名、永田志保、改田 厚\*、久保英幸\*、影山 努：\*大阪市立環境科学研究

所]

## 10. 感染対策におけるインフルエンザウイルスのエアロゾル動力学的挙動解析

医療従事者にとって感染対策に防護具は不可欠であり、防護具の病原体に対する防護性能を評価しておくことは重要である。しかし、マスク等の性能向上を考える上で必要な、病原体エアロゾルの捕集理論解析はあまり研究されていない。そこで、市販マスク等の医療用不織布素材によるインフルエンザウイルスエアロゾルの捕集現象について、エアロゾル動力学的挙動解析を行った。気相中のインフルエンザウイルス粒子の輸送過程はブラウン拡散が支配的と仮定し、繊維 1 本に捕集される動力学的作用に、Interception、Inertial impaction、Gravitational setting、Diffusion の総和を考慮し、計算パラメータとして、ウイルス粒子径  $dp$ 、粒子のブラウン拡散係数  $D$ 、Cunningham の補正係数  $C_c$ 、繊維の充填率  $\alpha$  等を用いて、ウイルス粒子の繊維層対数透過式から、インフルエンザウイルスのエアロゾル透過率を予測計算した。また、計算結果を検証するため、これまでに開発した M1 蛋白標的 antigen-capture ELISA を用いて、当該不織布素材のインフルエンザウイルス透過率を実測した。比較として、マスク素材の海外規格 ASTM の変法試験に使用される、球形で粒子径の小さい phi-X174 phage の透過率も実測した。その結果、理論計算上でも実測でも、インフルエンザウイルス (TEM と DLS で粒子径約 120nm) の透過率は、phi-X174 phage (粒子径約 28nm) より高いことが判明した。よって、インフルエンザウイルスエアロゾルは、海外規格によるマスク性能評価で得られた結果よりも、実際には透過する懸念が示唆された。[嶋崎典子、岡上晃\*、菊野理津子\*、篠原克明\*\*：\*(一財)北里環境科学センター、\*\*バイオセーフティ管理室]

## 11. 中国で発生したインフルエンザ H7N9 株の動物における感染性の検討

2013 年より中国で発生した新規インフルエンザ H7N9 株の動物における感染性および病原性を検討しており、前年度までに以下の性質を有することを示してきた。

・ A/Anhui/1/2013 (Anhui 株：H7N9) 株はマウスで高い致死性を有しているが、高病原性トリインフルエンザ

(HPAI) に認められるような全身的な感染は認めない。

・ Anhui 株をマウスに馴化した場合 (Anhui-M 株)、原株よりも非常に高い致死性を獲得した。

・ Anhui-M 株を上気道に局限した感染させた場合、上気道から急速に肺へ感染が移行する。

・ 馴化株では感染初期における Type I IFN 関連遺伝子群の発現が原株よりも低い。

・ 遺伝子解析の結果から、このような増殖性の変化には PA 分子が関与していることが示唆された。

しかし本研究の遺伝子解析には、Anhui 株をマウスで継代した肺洗浄液を発育鶏卵に接種して増殖したウイルスを用いたため、様々な変異を有した株が混合していることが予測されるため、原株と馴化株のウイルス漿尿液からブランク単離を行い、各クローンの病原性について検討した。

原株と馴化株、それぞれ 3 サイクルずつブランク単離を行い、最終的に原株から 3 クローン、馴化株から 6 クローン獲得した。各クローンのウイルス価を測定した結果、 $10^{8.3} \sim 10^{9.6}$  pfu/mL であった。これらのクローンをマウスに感染させ致死性を検討した結果、原株の 3 クローンと馴化株の 1 クローンでは致死性が低かったのに対し、馴化株の 5 クローンは非常に高い致死性を有していることが明らかとなった。現在これらのクローンに遺伝子配列を確認している。[浅沼秀樹、小田切孝人、相内 章\* : \*感染病理部]

## II. インフルエンザワクチンに関する研究

### 1. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種者血清の抗体保有率、陽転率、および流行株との交差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、2016/17 シーズンの季節性インフルエンザワクチン接種を受けた成人層および老人層のそれぞれペア血清検体を用いて、ワクチン製造株および流行株に対する反応性を赤血球凝集抑制 (HI) 試験にて評価した。各血清検体は、ワクチン接種後血清の A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1)pdm09、B/Phuket/3073/13 (山形系統) および B/Texas/2/13 (ビクトリア系統) 抗原に対する抗体価が成人層は 80HI 価以

上 (24 名)、老人層は 40HI 価以上 (23 名) のものを選び、試験に用いた。その結果、A(H1N1)pdm09 と B 型のビクトリア系統について、ワクチン接種者血清は流行株と比較的高い反応性を示した。しかしながら、A(H3N2) 流行株に対して反応性は極めて低く、B 型山形系統流行株に対しても反応性が低かった。以上から、A(H1N1)pdm09 と B ビクトリア系統に対してはワクチンの効果が期待されるが、A(H3N2) と B 山形系統流行株に対してはワクチン効果の減弱が懸念された。また、アメリカ、イギリスから入手したヒト血清についても同様の評価を行った。その結果、ワクチン株と流行株に対して、海外ワクチン接種者血清の HI 抗体幾何平均値の上昇倍率のほとんどが 2.5 以上であるのに対して、日本のワクチン接種者血清のその上昇倍率はほとんどが 2.0 未満と低いことがわかった。このことから、日本のワクチンの免疫原性の低さもワクチン効果の減弱に影響する可能性が考えられた。これらの成績を WHO インフルエンザ協力センター間で共有し、2 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、中村一哉、桑原朋子、佐藤 彩、秋元未来、菅原裕美、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、小川理恵、菖蒲川由郷\*、齋藤玲子\*、渡邊真治、小田切孝人 : \*新潟大学国際感染症医学講座]

### 2. ワクチン接種者血清を用いた A(H1N1)pdm09 の抗原性の評価に関する研究

最近の A(H1N1)pdm09 は、出現した 2009 年当初の株と比較すると抗原性部位に少しずつアミノ酸置換の集積が認められているが、A(H1N1)pdm09 の抗原性は比較的安定であるとされ、2009 年の流行以来、2016/17 シーズンまでワクチン株の変更は行われなかった。実際、従来のフェレット感染血清を用いた抗原性解析では A(H1N1)pdm09 の抗原性変化を捉えることができなかった。そこで、ワクチン接種者の血清においても同様の結果が得られるかどうかを検証した。2010/11、2012/13 および 2015/16 のそれぞれのシーズン前における日本のワクチン接種者 (それぞれ 24 名ずつ) の血清を用いて、ワクチン製造株および 2009 年から 2016 年までの特徴的なアミノ酸置換を持つウイルスとの反応性を HI 試験によ

り比較解析した。その結果、3シーズンの血清全てにおいて、2009年のH1pdm流行当初から野外株との反応性は、ワクチン製造株との反応性と比べると低いことがわかった。これはワクチン製造過程の発育鶏卵培養中に起こったHAの抗原部位のアミノ酸置換(Q223R)の影響が大きいと考えられた。また、2010/11シーズンの血清は、2010年に分離され始めたクレード6に属するウイルスと比較的よく反応しているのに対して、2012年に分離され始めたクレード6Bウイルスとの反応性は低下する傾向がみられた。この反応性の違いには、抗原部位にある163番目のアミノ酸置換(K目の)の影響が大きいと考えられた。さらに、同血清はクレード6Bのウイルスにさらに抗原部位のアミノ酸置換が加わったクレード6B1(S162N:糖鎖付加)と6B2(V152T)のウイルスに対して反応性がより大きく低下していた。この反応性のパターンは3シーズンとも共通していたが、シーズンを経るごとに野外株との反応性は上がり、HI値が20以下を示した検体数は減少した。以上から、フェレット感染血清と比較し、ワクチン接種者の血清はA(H1N1)pdm09の抗原性の変化を捉えられることが明らかとなった。

[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、菖蒲川由郷\*、齋藤玲子\*、渡邊真治、小田切孝人：\*新潟大学国際感染医学講座]

### 3. ワクチン力価(HA 抗原量)の新規試験法の開発に関する研究

B型2系統を含有する4価ワクチンは、現行のSRD試験法では、B型ウイルスの山形系統とビクトリア系統の2株間に交差反応が起こり、正確なHA抗原量測定が困難な場合がある。我々はこれまでに、系統間の交差反応が起こらないモノクローナル抗体を複数獲得し、ワクチンの有効成分であるHA三量体を、同一のモノクローナル抗体でcaptureとdetectするsandwich ELISAの開発を進めている。ワクチン抗原の定量には測定再現性が重要視され、新規力価試験法に関するいくつかの既報ではC.V.>12%と報告されているが、本ELISA法ではC.V.=9.2%と良好であった。ただし、SRD試験用の標品を用いてSRD試験結果との一致性について検討したところ、株によっては一致しないものがあり、本ELISA用標品の必

要性が示唆された。一方、B型2株間に交差反応が起こるSRD試験用抗血清の代わりに、モノクローナル抗体を使用できないか検討したところ、SRD沈降輪を生じさせるモノクローナル抗体がいくつか見つかった。これらのモノクローナル抗体の性状解析をすると、SRD沈降輪形成能は、ウイルスに対するHI titerやワクチン抗原へのAffinityとはあまり相関が認められなかった。現在、相関因子等について研究を進めている。[嶋崎典子、板村繁之]

### 4. 弱毒生インフルエンザワクチンの力価評価法の開発

弱毒生ワクチンはウイルス感染価を力価とするが、感染価は様々な要因によって大きく変動するため、再現性・安定性の高い力価の測定には変動要因の克服が必要である。力価測定の変動因子を明らかにするため、MDCK細胞とモデルウイルスを用い、感染細胞を蛍光染色して力価を測定するフォーカス形成法の解析を行った。検鏡下における細胞の染色像は多様であり、感染細胞の識別に人的な差異が生じ得ること、使用するウイルス株によっては彗星様感染細胞塊を形成するため、感染細胞数の計測に困難が生じることが力価の変動因子として示唆された。そこで、画像撮影と解析によるより普遍的な感染細胞の識別法を構築し、その妥当性について評価するとともに、ウイルス株によらず多段階増殖を許容しない細胞株を探索中である。[原田勇一、板村繁之]

### 5. ワクチンの免疫原性に関与する免疫応答測定方法の開発に関する研究

ワクチンによる免疫応答は、投与されたワクチンを抗原提示細胞が取り込むことから開始するとされている。昨年度は熱変性したワクチンの免疫原性の評価を行い、マクロファージ活性化がマウスにおける有効性と相関があることを見出した。本年度は昨年度に引き続き、抗原提示細胞のワクチン取り込みの評価をすることでワクチンの免疫原性を評価出来るかについて、変性レベルの低いワクチンを用いて検討した。全粒子ワクチンを50℃で1時間、4時間、7時間熱処理したワクチンを調製しマクロファージ活性化のレベルを調べた結果、NF- $\kappa$ B/AP-1の活性化は4時間及び7時間で、ISGの活性化は7時間の熱処理でそれぞれ有意に低下することがわかった。一方SRD試験によるHA含量の測定結果では

80%~90%程度となり、未処理ワクチンと同等と評価された。これらの結果から、マクロファージ活性化を指標とする試験法はインフルエンザ全粒子ワクチンの免疫原性の評価において、熱変性の検出に関してはSRD試験よりも有用である可能性が示された。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之、小田切孝人]

#### 6. 細胞培養ワクチン株作製用母体ウイルスの開発

現在、日本では季節性インフルエンザワクチン製造に細胞培養法を導入することが検討されている。しかし、実用化に適した細胞培養ワクチン製造用母体ウイルスの開発は遅れている。これまでに、我々は細胞培養季節性インフルエンザワクチン株の元株を分離するために、NIID-MDCK細胞を樹立し、昨年度までに、この細胞に馴化させた高増殖母体ウイルスhg-PR8株を開発した。当該年度は、このhg-PR8株の高増殖性の要因の探索を行った。そのため、hg-PR8株のオリジナルであるPR8株にhg-PR8株が獲得したアミノ酸変異を導入したウイルスを作製し、ウイルス力価を測定した。その結果、PB2遺伝子またはNS2遺伝子に変異を持つウイルスの力価が、オリジナル株よりも有意に増加していることが確認された。しかし、PB2またはNS2それぞれの変異を持つウイルスのウイルス力価はhg-PR8株のそれより低かったことから、両方の変異を持つことが増殖性の増加に重要な可能性が示唆された。[鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

#### 7. 細胞培養ワクチン株作製用母体ウイルスの有用性の検討

現在、細胞培養季節性インフルエンザワクチン製造株は、臨床検体から分離した季節性インフルエンザウイルスの野生株の使用が予定されている。しかし、増殖性を高めるために細胞で継代を繰り返すことにより細胞馴化変異が生じ、抗原性の変化や抗原性解析に支障が生じる場合がある。そこで、野生株とhg-PR8との間のリアソータントウイルスを作製し、NIID-MDCK細胞で継代後の馴化変異の挿入の有無につき調べ、hg-PR8を用いたリアソータントの有用性を検討した。具体的には、HA、NA遺伝子は野生株A/Ibaraki/N12232/2012(H3N2)(TA232)あるいは、A/Ibaraki/N12233/2012

(H3N2)(TA233)由来、その他の遺伝子はhg-PR8株由来のリアソータントウイルス(TA232/HG、TA233/HG)をリバースジェネティクス法で作製し、継代後の遺伝的安定性を野生株と比較した。その結果、野生株のTA232はNIID-MDCK細胞で4継代後に、HA遺伝子には変異が入らなかったが、NA遺伝子にはHA活性に影響を与える細胞馴化変異(D151N、D151G、D151A)が確認された。一方、TA232/HGはNIID-MDCK細胞で6代継代を繰り返してもHA遺伝子に変異は入らず、NA遺伝子にはHA活性に影響を与える細胞馴化変異(T148K)が4継代目で確認され、5継代目で入れ替わった。この変異は野生株で生じている細胞馴化変異に比べ、HA活性に与える影響は少なかった。野生株のTA233は4継代後に、レセプター結合領域や抗原部位に該当しない変異(T248K)が確認され、NA遺伝子にはHA活性に影響を与える細胞馴化変異(T148I、D151G、D151N)が確認された。一方、TA233/HGは3継代目でHA遺伝子にレセプター結合領域や抗原部位に該当しない変異(P221L)が確認され、5継代目で入れ替わったが、抗原性には影響しなかった。NA遺伝子には変異が入らなかった。hg-PR8を母体ウイルスとしたリアソータントウイルスTA232/HGやTA233/HGは、野生株と比較して、NIID-MDCK細胞での連続継代後の細胞馴化変異が抑制されており、hg-PR8を母体ウイルスとしたリアソータントの遺伝的安定性が示唆された。[鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

#### 8. 細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けての取り組み

日本の季節性インフルエンザワクチン製造に細胞培養法を導入するために、昨年度に引き続き下記課題への取り組みを行った。[(1)細胞培養ワクチン株作製法の確立。(2)細胞培養ワクチンのHA抗原量測定試薬(SRD試薬)作製法の確立。] 課題(1):今年度も感染研所有のNIID-MDCK細胞を用いて2015/16シーズンの臨床検体から分離したウイルス(元株)をワクチン製造所へ分与し、ワクチン株開発に供した。各ワクチン製造所社により、進捗が異なるが、昨年度までに分与した元株に由来するワクチン製造種株候補に対して、当室で抗原解析試験を行い、WHOが推奨する当該シーズンの抗原的基準株(プロトタイプ株)との抗原的同等性につき評価を行

った。その結果、ワクチン製造所のうち1社では、A/H1N1pdm09, A/H3N2, B/Yam, B/Vic の各型、亜型で、最低1株は抗原解析試験に合格する種株候補が開発されていた。一方、他社の中では、一部の型、亜型ウイルス(A/H3N2, B/Yam)を用いた種株候補開発を行い、抗原解析試験に合格する種株候補を開発した製造所もあった。今後、これまでに分与した元株から開発された全ての種株候補に関して抗原解析試験を行い、種株開発に関わる今後の課題を明らかにする。課題(2):課題(1)で開発された一部の種株候補をもとにSRD試薬を作製しSRD試験を行った(詳細は別記)。細胞培養ワクチン株に由来するSRD試薬の作製では、細胞成分の混入をどの程度避けられるのかが、課題の一つになる。今年度、一ワクチン製造所から提供されたH1N1pdm09種株に由来するprimary liquid standard (SRD試薬の一つ)は、比較的純度が高く、SRD試験による試作ワクチン中のHA抗原量の推定は容易に行えた。来年度は、上記製造所の4価ワクチンや他社の試作ワクチンに対してSRD試験を行い、細胞培養季節性ワクチン実用化のための課題を明らかにしていく。

[信澤枝里、高橋仁、浜本いつき、小田切孝人、ワクチン製造所(化血研、北里第一三共、武田薬品工業、阪大微研会)]

#### 9. 細胞培養ワクチン株(種株)の開発

ワクチン製造用シードウイルスを作製する方法を確立するために、効率的ウイルス(元株)分離法の確立とシードウイルスの作製を行った。今年度は抗原性が流行の主流と一致するウイルス(元株)が分離できる臨床検体を選定するために、次世代シーケンサーを用いた臨床検体中ウイルスゲノム(HA, NA 遺伝子)の解析手法の確立と解析結果の蓄積を行った。その結果、多くの臨床検体中のウイルスゲノム配列は、混合塩基の存在しない単一なゲノム配列となっていることが確認された。また、2015/2016 シーズンのプロトタイプ株と同等の抗原性を示す種株候補を、ワクチン製造所の協力を得て作製することに成功した。[高橋仁、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里]

#### 10. 細胞培養ワクチンの品質評価法の開発

細胞培養ワクチンのHA抗原量測定のための一元放射

免疫拡散(SRD)試験用試薬の作製と、その試薬を用いたHA抗原量の測定を行った。細胞分離ウイルスに由来するA/H1N1pdm09ウイルスを用いてSRD試薬(標準抗原および参照抗血清)の作製を行い、この試薬が細胞培養ワクチンのHA抗原量測定に資するものであることを確認した。また、現在の流行に適合した細胞培養ワクチンのHA抗原量を測定するためのSRD試薬の作製と、効率的にHA抗原量を測定することのできる参照抗血清の作製を試みた。[高橋仁、藤本貴男\*、堀越史朗\*、魚谷多恵\*、奥谷三慧\*、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里：\*阪大微生物病研究会]

#### 11. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究

本年度は、ヒトに感染性や病原性を示す呼吸器系以外の血液・腸管系ウイルスを対象とした迷入ウイルス検出系を構築した。各ウイルス株からウイルス核酸を抽出し、RT-PCR法にて標的遺伝子領域を増幅させて精製後、RNAを合成した。得られたRNAの吸光度から濃度を求め、標準RNAの分子量からコピー数を算出し、定量RT-PCR法の陽性コントロール核酸を作成した。マルチプレックスリアルタイムRT-PCR法にて陽性コントロール核酸の検出限界値を調べた結果、検出系に1~100コピー以上のウイルスが存在していれば、ウイルスの検出が可能であることが示された。[浜本いつき、高橋仁、小田切孝人、信澤枝里]

#### 12. NIID-MDCK細胞の迷入ウイルス排除能の検討

細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化のため「細胞培養ワクチン株開発」を日本のワクチン製造所社とともにやっている。その際、当室ではインフルエンザ患者の臨床検体から、NIID-MDCK細胞を用いてウイルスを分離し、元株として各所社に分与している。しかし、元株分離の過程で、臨床検体に由来するインフルエンザウイルス以外の迷入ウイルスが、元株に混入する可能性がある。そこで、NIID-MDCK細胞における迷入ウイルスの増殖能を検討し、その元株分離用細胞としての有用性を評価した。インフルエンザと重複感染する可能性の高い呼吸器系ウイルス8種類を選択し、各ウイルスの増殖用細胞とNIID-MDCK細胞に、それぞれ感染させて、継代を繰り返した。各継代後に培養上清からそれ



ぞれのウイルス核酸を抽出し、マルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法を用いてウイルスコピー数を測定した。その結果、今回検討した呼吸器系ウイルスのうちパラインフルエンザウイルス 3 型以外のウイルスは、増殖用細胞では、増殖するのにに対し、NIID-MDCK 細胞で継代を繰り返すことによって、培養上清中のウイルスゲノムは検出限界以下になった。従って、NIID-MDCK 細胞を用いて元株を分離することで、今回検討したウイルスのうち 7 種のウイルスに関しては、元株に混入する可能性は低いことが示唆された。〔浜本いつき、高橋 仁、水田克巳\*、佐藤光\*\*、西村秀一\*\*、小田切孝人、信澤枝里：\*山形県衛生研究所、\*\*国立病院機構仙台医療センター〕

### 13. H5N1 ワクチン株の総ウイルスタンパク収量・HA 収量の改善法の検討

既存の H5N1 ワクチン株候補は、通常、HA, NA 遺伝子は野生株に由来し (HA 遺伝子には低病原性化変異を挿入)、その他の遺伝子は母体ウイルスに由来する。このワクチン株の中には、鶏卵培養後のタンパク収量/HA 収量が著しく低い株が存在することをこれ迄に明らかにしてきた。そこで、収量を左右している要因を調べるため、クレード 1 に属する株のうち、高 HA 収量株および低収量株を選出し、HA および NA 遺伝子の塩基配列を比較した。その結果、両株は、HA, NA の翻訳領域、非翻訳領域(NCR) (HA3'NCR および NA5'NCR)いずれにも配列の違いが確認された。そのため、母体ウイルスを同一にした上で、まず、非翻訳領域の配列のみを入れ替えたウイルスを作製して収量の比較を行った。その結果、低収量株の HA3'NCR を高収量株のものに換えると HA 収量が増加し (しょう尿液 1mL 中 3.3±0.4 が 6.1±0.4µg に増加)、高収量株について、HA3'NCR を低収量株のものに換えると HA 収量が減少し (しょう尿液 1mL 中 10.7±0.9 から 5.6±0.2µg に減少)、HA3'NCR が HA 収量に影響を与える事が判明した。また、NA5'NCR の入れ替えでは HA 収量の変化は見られなかった。NCR 配列の収量への影響も考慮し、今後のワクチン株開発を行っていく。

〔有田知子、鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里〕

### 14. ウイルス様粒子 (VLP) を用いた新規経鼻インフルエンザワクチン開発に関する研究

現行のインフルエンザワクチンは主に以下の問題を抱えている。

- ・製造過程でのワクチン抗原の変異
- ・鶏卵の使用による製造量の制約と迷入因子の混入
- ・流行株変異による有効性の低下
- ・ウイルス侵入門戸の分泌型 IgA 誘導不能

このような問題点を解消するためにウイルス様粒子型 (VLP) 経鼻インフルエンザワクチンの開発を行っている。昨年度までに A/California/7/2009(A(H1N1)pdm09)株の HA 遺伝子を用いた VLP (Cal7 HA-VLP) を経粘膜アジュバントの CpG-ODN G9.1 (G9.1) とともにマウスに経鼻投与した場合の免疫応答ならびに防御効果を検討し、Cal7 HA-VLP は現行のスプリットワクチン (X-179A) よりも免疫原性が高いこと、ならびに G9.1 は粘膜経路で高い免疫増強効果を有することを示した。今年度は引き続きマウスに免疫する場合の適切な免疫用法の検討を行った。その結果、高用量の経鼻 1 回投与よりも、追加投与を行う 2 回接種の方が効率的に免疫応答を誘導でき、総抗原用量を減少できることが明らかとなった。また本研究で使用している粘膜アジュバントの G9.1 は、D(A) タイプの CpG であるが、他の同タイプの CpG との免疫増強効果の比較を行った結果、G9.1 の方がより高い免疫増強効果を有することも明らかとなった。〔浅沼秀樹、小田切孝人、前山順一\*、山本典生\*\*、伊保澄子\*\*\*、山本三郎\*\*\*\*、藤橋浩太郎\*\*\*\*\*：\*血液安全性研究部、\*\*順天堂大・医、\*\*\*福井大・医、\*\*\*\*日本 BCG 研究所、\*\*\*\*\*アラバマ大・バーミンハム校〕

### 15. ヒト粘膜抗体の測定方法の樹立に関する研究

経鼻インフルエンザワクチン開発の一環として、気道抗体の評価方法の構築を目指した検討を進めている。本研究では気道の抗体を唾液で評価することが可能であるかどうかを検討するため、口腔内から唾液を回収する部位の違いと回収される分泌型 IgA (SIgA) 抗体量の違いについて検討した。耳下腺から分泌液が排出される口腔側部にあるステノン管もしくは顎下腺と舌下腺から分泌液が排出される舌下にあるワルトン管の排出口に唾液回収用のサリソフトのスポンジを用いて分泌される唾液を吸収させ、遠心後に回収された唾液中に含まれる SIgA 量と総タンパク量を測定した。その結果、ワルトン管の

排出口から回収した唾液の方が、ステノン管より回収した唾液よりも高濃度の SIgA が回収できることが示唆された。また本回収方法はこれまでに一般的に用いられていた唾液の回収方法よりも、夾雑物が少なく、また個体差のばらつきが少ない手法であることも示された。[浅沼秀樹、黒野祐一\*、大堀純一郎\*、藤橋浩太郎\*\*、小田切孝人:\*鹿児島大学・医、\*\*アラバマ大・バーミンハム校]

## レファランス業務

### 1. サーベイランスキット作製と国内への配布

A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B/Victoria 系統、B/Yamagata 系統のレファランスウイルスから不活化抗原とウサギ免疫血清を作製して、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て、70カ所余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衛研で病原体検出情報システムに登録され、その情報は地衛研から当室へのウイルス提供に際して有効に活用された。提供された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。[中村一哉、岸田典子、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤 彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

### 2. フェレット感染血清作製とサーベイランスキットの海外への配布

A(H1N1)pdm09 (卵株)、A(H3N2)(細胞株)、B 山形系統(細胞株)、B ビクトリア系統(細胞株)のレファランスウイルスを用いてフェレット感染血清と不活化抗原を 11 キット作製し、抗原性解析用インフルエンザウイルスサーベイランスキットとして、わが国周辺諸国 (台湾、韓国、ミャンマー、モンゴル、ラオス、ネパール) に配布した。本キットを用いて各国で初期解析されたウイルスの提供を受け、さらに詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行い、WHO および国内向けワクチン株選定会議へ情報提供した。[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤 彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

### 3. 地方衛生研究所における抗インフルエンザ薬耐性検査

の実態調査

A(H1N1)pdm09 ウイルスを対象に実施している H275Y 耐性マーカーの検出検査は、A(H1N1)pdm09 の流行状況によりシーズン毎の解析数が大きく変動する。そのため、流行の規模が小さいシーズンには、検査を行う機会がまったく無い場合がある。そこで、シーズン毎に検査の実態調査を行い、調査結果を検査精度の維持・向上に資することを目的として、本年度は全国 11 カ所のレファレンス地方衛生研究所を対象に TaqMan RT-PCR 法による RNA 陽性コントロールの検出を行った。その結果、ほとんどの地衛研では検査精度が維持されていることが確認された。一方、問題がみられた地衛研に対しては個別に対応し、最終的に問題点を解決できた。[高下恵美、中内美名、岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、菅原裕美、佐藤 彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人、皆川洋子\*、安井善宏\*、駒込理佳\*\*、三好正浩\*\*、山口宏樹\*\*、高橋雅輝\*\*\*、佐藤直人\*\*\*、川上千春\*\*\*\*、宇宿秀三\*\*\*\*、長島真美\*\*\*\*\*、秋場哲哉\*\*\*\*\*、小淵正次\*\*\*\*\*、米田哲也\*\*\*\*\*、森川佐衣子\*\*\*\*\*、廣井 聡\*\*\*\*\*、三好龍也\*\*\*\*\*、芦塚由紀\*\*\*\*\*、山下育孝\*\*\*\*\*、溝田文美\*\*\*\*\*、越智晶絵\*\*\*\*\*、久場由真仁\*\*\*\*\*、喜屋武尚子\*\*\*\*\*、加藤峰史\*\*\*\*\* : \*愛知県衛生研究所、\*\*北海道立衛生研究所、\*\*\*岩手県環境保健研究センター、\*\*\*\*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、\*\*\*\*\*大阪府立公衆衛生研究所、\*\*\*\*\*堺市衛生研究所、\*\*\*\*\*福岡県保健環境研究所、\*\*\*\*\*愛媛県立衛生環境研究所、\*\*\*\*\*沖縄県衛生環境研究所]

### 4. 地方衛生研究所におけるウイルス分離培養および同定検査技術の実態調査

インフルエンザウイルスサーベイランス技術の維持・向上をはかるうえで、地方衛生研究所におけるインフルエンザウイルスの分離培養および同定検査の体制の現状を把握することを目的とし、本年度は全国 11 カ所のレファレンス地方衛生研究所を対象に、ウイルス分離培養および同定技術の実態調査を実施した。対象の衛生研究所に、ウイルス分離試験用として A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、

B Yamagata, B Victoria、および陰性サンプルを含む5サンプルを冷凍で送付し、各衛生研究所で通常使用している培養細胞および手法を用いて、ウイルス分離および型・亜型同定を実施した。分離および同定結果に問題が見られた衛生研究所には対策を提示した。[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤 彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人、皆川洋子\*、安井善宏\*、駒込理佳\*\*、三好正浩\*\*、山口宏樹\*\*、高橋雅輝\*\*\*、佐藤直人\*\*\*、川上千春\*\*\*\*、宇宿秀三\*\*\*\*、長島真美\*\*\*\*、秋場哲哉\*\*\*\*、小淵正次\*\*\*\*\*、米田哲也\*\*\*\*\*、森川佐衣子\*\*\*\*\*、廣井 聡\*\*\*\*\*、三好龍也\*\*\*\*\*、芦塚由紀\*\*\*\*\*、山下育孝\*\*\*\*\*、溝田文美\*\*\*\*\*、越智晶絵\*\*\*\*\*、久場由真仁\*\*\*\*\*、喜屋武尚子\*\*\*\*\*、加藤峰史\*\*\*\*\*] : \*愛知県衛生研究所、\*\*北海道立衛生研究所、\*\*\*岩手県環境保健研究センター、\*\*\*\*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、\*\*\*\*\*大阪府立公衆衛生研究所、\*\*\*\*\*堺市衛生研究所、\*\*\*\*\*福岡県保健環境研究所、\*\*\*\*\*愛媛県立衛生環境研究所、\*\*\*\*\*沖縄県衛生環境研究所]

5. 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスおよび鳥インフルエンザウイルス(H7)を検出できる蛍光 Direct RT-LAMP 法の地方自治体・検疫所・病院への導入

蛍光 Direct RT-LAMP 法を用いた簡便・迅速な MERS コロナウイルス、季節性インフルエンザウイルス (A/H1pdm09, H3)、鳥インフルエンザウイルス(A/H7)を一度に検出可能な遺伝子検査キットを構築し、昨年度に引き続き平成 28 年度も、本キットの試用を希望する 15 カ所の地方衛生研究所と 6 カ所の検疫所および 2 カ所の病院において、MERS コロナウイルスおよび H7 亜型の鳥インフルエンザウイルス感染疑い患者に対して、30 分以内に迅速診断を行える体制を整えた。[高山郁代、中内美名、齊藤慎二、影山 努]

6. インフルエンザウイルス核酸診断検査法の地方衛生研究所に対する外部精度評価の実施

平成 28 年度外部精度管理事業として、全国 74 ヶ所の

地方衛生研究所に対して、インフルエンザウイルスの核酸検出検査 (リアルタイム RT-PCR 法) による型・亜型診断検査の外部精度評価(EQA)を実施した。各地方衛生研究所から送付された結果報告およびアンケートに対して解析を行い、EQA の結果については各所に報告した。また、EQA を実施した結果、各所が行うインフルエンザウイルス核酸診断検査法に何らかの問題点が見つかった場合はトラブルシューティングを実施する事とし、各所のトラブルシューティングに関する質問事項等に対応し、検査精度向上に向けた改善法などについて助言を行った。また、検査精度向上に関する研修を希望する自治体に対しては、現地にて研修・実習を行った。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二、小田切孝人]

7. インフルエザワクチンの力価測定用標準抗原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に関する国際キャリブレーションを実施した。具体的には、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-cell derived [CBER]、A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09-cell derived [TGA]、B/Brisbane/46/2015 [TGA]、B/Brisbane/60/2008 [TGA]、B/Hong Kong/259/2010-cell derived [CBER]、B/Phuket/3073/2013 [NIBSC]、B/Brisbane/60/2008 (BX-35) [ NIBSC ]、 A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180) [ TGA ]、 A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180) [ NIBSC ]、 A/Anhui/1/2013 (H7N9) (NIBRG-268) [NIBSC]、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) (X-263B) [TGA]、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) (X-263B) [ NIBSC ]、 A/Egypt/N03072/2010 (H5N1) (IDCDC-RG29)、A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRG-163222)-EB66 cell derived [NIID]、A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRG-163222)-Vero cell derived [NIID]、A/California/7/2009 (H1N1)pdm09 (X-181) [NIBSC]、A/New Caledonia/71/2014 (H3N2) (X-257A) [TGA]、A/New Caledonia/71/2014 (H3N2) (X-257A) [NIBSC]、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) (X-263) [ NIID ]、 A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 (X-275)、B/Phuket/3073/2013 [TGA] 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。[原田勇一、河野直子、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人]

#### 8. 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 28 年度のインフルエンザ HA ワクチンのワクチン製造株である A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 の 4 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。また、B 型ウイルスの 2 株については、昨年度に引き続いて、SRD 試験方法の評価研究結果に基づき、SRD 試験の実施区分を制定した。[嶋崎典子、原田勇一、河野直子、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人]

#### 9. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための参照インフルエンザ HA ワクチンの作製

国家検定の力価試験として一元放射免疫拡散（SRD）試験あるいは卵中和試験を行うこととされているが、通常は SRD 試験が力価試験として実施されている。SRD 試験で HA 含量が規定されたワクチンのマウスにおける免疫原性を確認することを主な目的として、卵中和試験に使用するウイルス株ごとに 15 $\square$ 5 がドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを作製している。本年度の参照ワクチンとして、平成 28 年度のワクチン製造株である A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263)(H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 の 4 株のワクチンを含有するものを作製した。参照ワクチンの作製に使用する原液について HA 価測定及び分画試験を実施して原液の品質規格を確認した。また、SRD 試験によって原液の HA 含量を測定して、ウイルス株ごとに 15 $\square$ 5 をドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを調製した。得られた参照ワクチンについて、物理化学試験（たん白質含量、チメロサル含量）、マウス白血球数

減少試験を実施して規格に適合していることを確認し、卵中和試験によってその力価を測定した。[佐藤佳代子、河野直子、嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、楠英樹\*、谷生道一\*、福田靖\*\*、小田切孝人：\*血液・安全性研究部、\*\*細菌第 2 部]

#### 10. 標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)の作製

使用期限をむかえる標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)について、新規ロットを作製し、含有される抗原の CCA 価を測定し、本年度国内標準品として制定した。[佐藤佳世子、嶋崎典子、鈴木康司、板村繁之、小田切孝人]

### サーベイランス業務

#### 1. 2016/17 シーズンのインフルエンザウイルス国内流行株の抗原性解析

全国の地衛研から提供を受けた A(H1N1)pdm09 : 123 株、A(H3N2) : 336 株、B 山形系統 : 114 株、B ビクトリア系統 : 126 株について抗原性解析を行った。また、医療機関から臨床検体の提供を受けて分離培養した A(H3N2) : 94 株、B 山形系統 : 5 株、B ビクトリア系統 : 22 株についても同様に解析した。2016/17 シーズンの解析は A(H3N2) ウイルスが流行株の約半数を占めた。次に B 型ウイルスが 3 割強を占め、A(H1N1)pdm ウイルスがこれに続いた。B 型ウイルスは山形系統株とビクトリア系統がほぼ同じ割合で流行した。A(H1N1)pdm09 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(H3N2)分離株はワクチン株の A/Hong Kong/4801/2014 と抗原性の異なる株が流行株の半数近くを占めた。B 山形系統および B ビクトリア系統の流行株は、いずれも B 山形系統ワクチン株 B/Phuket/3073/2013、B ビクトリア系統ワクチン株 B/Texas/02/2013 にそれぞれ抗原性が類似していた。流行株の抗原性についてのまとめとして、感染症疫学センターの IASR ウェブサイトに情報提供を行った。[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、佐藤 彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、小川理恵、三浦秀佳、渡邊真治、小田切孝人、三田村敬子\*、安倍隆\*\*、市川正孝\*\*\*、山崎雅彦\*\*\*\* : \*永寿総合病院、\*\*あべこどもクリニック、\*\*\*市川こどもクリニック、\*\*\*\*座間小児科診療所]

## 2. 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流行株の抗原性解析

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 302 株 (台湾 77 株、ミャンマー 38 株、ラオス 168 株、モンゴル 9 株、韓国 10 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。A(H1N1)pdm09 流行株は、ワクチン株 A/California/07/2009 の類似株が主流を占めた。A(H3N2)ウイルスの半数近くが 2015/16 シーズンワクチン株 A/Switzerland/9715193/2013 の抗原性からの乖離が認められた。また、分離株の 3 割程度が 2016/17 シーズンワクチン株 A/Hong Kong/4801/2014 と抗原的に乖離していた。B 型ウイルスではビクトリア系統と山形系統が混合流行し、その割合は国、地域により違いが認められた。ビクトリア系統分離株は B/Brisbane/60/2008、B/Texas/02/2013 の抗原性類似株が、山形系統分離株は B/Phuket/3073/2013 抗原性類似株が主流であった。これらの解析結果は、ウイルス提供国へ還元され、WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークにおける近隣諸国と感染研の連携や WHO によるインフルエンザワクチン株選定に貢献した。[中村一哉、岸田典子、桑原朋子、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、高下恵美、菅原裕美、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

## 3. A/H3N2 亜型分離株の抗原性解析手法の改良

近年の A/H3N2 亜型株は HA 蛋白質による赤血球凝集活性が極めて弱く、HI 試験による分離株抗原性解析が行えない状況であるため、中和試験法を代替手法とした分離株抗原性解析が行われている。本手法によって 2015/16 および 2016/17 シーズンの A/H3N2 亜型分離株の抗原性について必要十分な解析を行い、得られた結果を WHO および国内向けワクチン株選定会議へ提供、活用された。また、中和試験法での試験結果の再現性への懸念を改善することを目的に、感染細胞巢減数試験 (Focus reduction assay, FRA) の分離株抗原性解析への応用について検討を行い、次期流行期の本改良手法の導入に備えた。[中村一哉、岸田典子、秋元未来、佐藤彩、桑原朋子、渡邊真治、小田切孝人]

## 4. 2016/17 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 と NA 遺伝子の変化に関する情報は、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時の基盤となり、公衆衛生上極めて重要な役割を担っている。全国地衛研および医療機関の協力の元に、本シーズンは A(H1N1)pdm09 亜型 164 株、A(H3N2)亜型 320 株、B 型山形系統 69 株、B 型ビクトリア系統 107 株について HA 及び NA 遺伝子の系統樹解析を行った。16/17 シーズンに流行の主流であった A(H3N2) 亜型は、全てクレード 3C.2a (N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H) に属し、この内約 63%が 3C.2a1 (N171K, I406V, G484E) サブクレードに属した。また遺伝子の多様化が進み、3C.2a および 3C.2a1 内で複数の集団が形成された。A(H1N1)pdm09 亜型はほとんどの株がサブクレード 6B.1 (S84N, S162N, I216T)に属し、この内約 68%は A215G を持つサブクレードに属した。B 型山形系統は全てクレード 3 (S150I, N165Y, N202S, S229D)内の M251V に、ビクトリア系統は全てクレード 1A(N75K, N165K, S172P)に属した。データベース充実化のために、上述した株のうち約 29%については全セグメントの遺伝子解析を実施した。なお、解析した遺伝子配列はインフルエンザウイルスデータベース GISAID へ登録した。また、作成した系統樹を感染症疫学センターの IASR ウェブサイトに掲載した。[藤崎誠一郎、白倉雅之、岸田典子、中村一哉、高下恵美、桑原朋子、三浦秀佳、菅原裕美、佐藤彩、小川理恵、秋元未来、渡邊真治、小田切孝人、三田村敬子\*、安倍隆\*\*、市川正孝\*\*\*、山崎雅彦\*\*\*\*：\*永寿総合病院、\*\*あべこどもクリニック、\*\*\*市川こどもクリニック、\*\*\*\*座間小児科診療所]

## 5. インフルエンザウイルス流行株の抗インフルエンザ薬感受性試験

薬剤耐性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。平成 28 年度には、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビルおよびラニナミビルの 4 薬剤を対象として、国内外の A(H1N1)pdm09 分離株 346 株、A(H3N2)分離株 501 株、B 型分離株 387 株の薬剤感受性を解析した。その結果、A(H1N1)pdm09 で H275Y 耐性変異をもつオセルタミビ

ル・ペラミビル耐性株が 45 株検出された。耐性株はいずれも散发例で、地域への感染拡大は認められなかった。薬剤耐性株サーベイランスで得られた結果は、NESID(感染症サーベイランスシステム)を通して毎週、各関係機関に情報提供した。また感染症疫学センターの IASR ウェブサイトにおいて毎週一般公開し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。[高下恵美、小川理恵、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、菅原裕美、佐藤 彩、秋元未来、渡邊真治、小田切孝人、三田村敬子\*、安倍隆\*\*、市川正孝\*\*\*、山崎雅彦\*\*\*\*:\*永寿総合病院、\*\*あべこどもクリニック、\*\*\*市川こどもクリニック、\*\*\*\*座間小児科診療所]

#### 6. 季節性インフルエンザワクチン候補株の鶏卵における分離

現行の季節性インフルエンザワクチンは、発育鶏卵で分離されたウイルスを使用する必要がある。より有効性の高いワクチン株の選定に貢献することを目的として、国内の医療機関から提供された臨床検体を鶏卵に接種し、ワクチン候補株の分離を試みた。その結果、ワクチン候補株として 20 株のウイルス[B 型ビクトリア系統 17 株、B 型山形系統 3 株]を分離することに成功した。さらに、B 型ビクトリア系統 1 株および B 型山形系統 1 株に対するフェレット感染血清を作製し流行株との反応性を調べた結果、いずれも流行株とよく反応することが明らかとなった。[高下恵美、桑原朋子、小川理恵、秋元未来、三田村敬子\*、安倍隆\*\*、市川正孝\*\*\*、山崎雅彦\*\*\*\*、渡邊真治、小田切孝人:\*永寿総合病院、\*\*あべこどもクリニック、\*\*\*市川こどもクリニック、\*\*\*\*座間小児科診療所]

#### 7. 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

全国 10 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が、本年度は、いずれの地方衛生研究所からも分離報告はなかった。[齊藤慎二、高山郁代、中内美名、小田切孝人、影山 努]

#### 8. 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保有調査

2003 年末以降、東アジアの家禽で発生した H5N1 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスが東南アジア、中近東、アフリカ、ヨーロッパへと拡散した。この感染拡大経路は渡り鳥の飛行ルートとも関連していることから、渡り鳥によってこれら鳥インフルエンザウイルスが我が国に持ち込まれる可能性がある。また、最近では H5N8、H5N6、H7N7、H7N9、H6N1、H10N8、H9N2 亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が東アジアで報告されており、鳥インフルエンザウイルスの国内での流行状況を把握する事は重要である。これらウイルスの我が国への侵入をモニターし、ウイルスライブラリーの構築を目的として、地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥より採取した糞便を用いて鳥インフルエンザウイルスの分離培養を試みている。本年度は兵庫県において H5N6 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルス A/duck/Hyogo/1/2016 を分離した。本株は WHO より鳥インフルエンザワクチン候補株として推奨された。[押部智宏\*、高山郁代、中内美名、齊藤慎二、小田切孝人、影山 努:\*兵庫県立健康生活科学研究所]

#### 9. 2016 年に日本で発生した高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N6 亜型) の抗原性解析

2016 年 11 月から日本でクレード 2.3.4.4 に属する高病原性鳥インフルエンザ(H5N6 亜型)の発生が確認された。そこで、日本で分離された H5N6 亜型のウイルス、A/duck/Hyogo/1/2016、A/black swan/Akita/1/2016、A/muscovy duck/Aomori/2-2T/2016、A/chicken/Niigata/1-1T/2016、A/chicken/Hokkaido/1-1C2C/2016 の抗原解析を行った。クレード 2.3.4.4 のワクチン株 (A/Sichuan/26221/2014 (H5N6) (IDCDC-RG42A)) やワクチン株候補 A/chicken/Viet Nam/NCVD-15A59/2015 に対するフェレット抗血清を用いて、上記日本分離株に対する反応性を調べた。その結果、いずれの株に対しても反応性が低いことが確認された。しかし、A/duck/Hyogo/1/2016 に対して作製したフェレット抗血清は、いずれの日本分離株ともホモ価と同等の反応性を示した。この結果をふまえ、2017 年 2 月 27 日から 3 月 1 日に開かれた WHO 北半球用ワクチ

ン株選定会議で、当センターで

A/duck/Hyogo/1/2016(H5N6)を元株にしたワクチン株の  
作製を行うことが決定した。[鈴木康司、有田知子、信澤  
枝里、小田切孝人]

## ワクチンの安定供給に関する業務

### 1. 季節性インフルエンザワクチン製造株候補の増殖、検 討、交付

2017/2018 シーズン用ワクチン株を選定するため、候  
補株を輸入し、GMP 準拠施設内で、マスターストックを  
増殖後、保存した [H1N1pdm 亜型：  
A/Michigan/45/2015(X-275, X-275A),  
A/Singapore/GP1908/2015(IVR-180),  
A/Scotland/P2/2015(NIB-97, X-285A),  
A/Lisboa/32/2015(NIB-98, X-283A),  
A/Slovenia/2903/2015(X-291), H3N2 亜型：  
A/Norway/2178/2014(X-273), A/Victoria/503/2015(X-281),  
A/Saitama/103/2014(CEXP-002)]。ワクチン製造所で増殖  
性、蛋白収量等の検討を行うため、H1N1pdm 亜型 7 株を  
試験交付、H1N1pdm 亜型 1 株と H3N2 亜型 1 株を仮交付  
した。ワクチン製造所における、増殖性、蛋白収量等の  
情報は、2017/18 シーズンワクチン株選定会議に供され、  
ワクチン製造株選定資料として共有された。[有田知子、  
鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

## 品質管理に関する業務

### 1. 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(SRD)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。更に、平成 27 年度からの 4 価ワクチン導入にとも  
ない、生物学的製剤基準の一部改正が実施され、B 型株  
の SRD 試験方法の実施区分が制定された。このような状  
況に対応するため、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、また、各製造所の測定値と  
の乖離についての検討を実施した。また、生物学的製剤  
基準の一部改正によって蛋白質含量試験の規格は変更と  
なったが、これまで蛋白質含量試験やマウス白血球数減

少試験において、毎年のワクチンが規格に適合している  
のか確認してきたため、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。[嶋崎典子、原田勇一、河野直子、  
佐藤佳代子、板村繁之、楠英樹\*、福田靖\*\*、小田切孝人：  
\*血液安全性研究部、\*\*細菌第 2 部]

### 2. 季節性インフルエンザワクチン製造用候補ウイルス 株の品質管理試験の実施

2016-17 年シーズンのインフルエンザワクチン製造用  
候補ウイルス A(H3N2)亜型 5 株の試験交付株、A(H3N2)  
亜型 4 株の仮交付株について、抗原分析及び HA、NA 遺  
伝子の遺伝子解析を実施して遺伝的・抗原的安定性を解  
析し、ワクチン製造用株としての適性を確認した。また、  
インフルエンザワクチン製造用に試験交付及び仮交付株  
の無菌試験を実施した。解析結果は、インフルエンザワ  
クチン株選定のための検討会議等を通じて関係各機関と  
情報を共有した。[原田勇一、佐藤佳代子、河野直子、中  
村一哉、佐藤 彩、信澤枝里、板村繁之、小田切孝人]

## 国際協力関係業務

### 1. ネパール NIC 研究者に対するインフルエンザウイル スの遺伝子解析技術の研修

インフルエンザウイルスサーベイランスのための技術  
向上を目的として、2016 年 11 月 6~15 日の期間、ネパ  
ール NIC から Bishnu Prasad Upadhyay 氏を招聘した。研  
修期間中は、インフルエンザウイルス RNA を用いて  
RT-PCR による遺伝子増幅、シーケンス反応、シーク  
エンス解析手法、および遺伝子系統樹解析について研修  
を実施した。[藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳]

### 2. インフルエンザウイルス流行株予測プログラム検討 会議への参加

7月5日~10日にかけてアメリカ プリンストン大学に  
て開催された Modeling Influenza Conference に参加した。  
遺伝子配列を用いた、将来起こりうる抗原性の変化予測  
プログラムが研究されているが、精度向上のために、抗  
原性解析の結果を予測プログラムに組み込むべきである  
との結論を得た。予測プログラムのワクチン株選定への

導入を目指し、今後も流行予測の研究について意見交換を行っていく必要がある。[藤崎誠一郎、小田切孝人]

### 3. WHO 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス強化のためのワーキンググループへの参加

WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークの抗インフルエンザ薬耐性ワーキンググループのメンバーとして、2014 年第 21 週から 2015 年第 20 週に検出された世界各国の 13,312 株のインフルエンザウイルスについて、抗インフルエンザ薬に対する感受性試験の結果を総括した。その結果、耐性株の検出率は 0.5%で、前シーズンの検出率 0.6%と同等であった。[高下恵美]

### 4. WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークにおける流行株の 2 次元的抗原性分析への参加と協力

WHO 世界インフルエンザ監視対応システムメンバーである Cambridge 大学グループが開発した 2 次元的ウイルス抗原性分析法 (Cartography 法) を用いて流行株の解析をするため、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 型ウイルスの抗原解析データおよび遺伝子解析データを Cambridge 大学へ提供した。これらの成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定に貢献した。[高下恵美、桑原朋子、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、菅原裕美、佐藤 彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳、渡邊真治、小田切孝人]

### 5. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定への参画

9 月と 2 月に WHO ジュネーブ本部で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、交差反応性などの情報提供をし、次年度のワクチン株選定を海外の WHO インフルエンザ協力センターと共に行った。8 月に「第 8 回広範な防御効果および長期間の免疫反応を誘導するインフルエンザワクチン開発に関する WHO 会議」に出席し、次世代のインフルエンザワクチンの開発状況等を情報共有し、今後のマイルストーンについて議論した。また 7 月に「第 10 回西太平洋－東南アジア地域 国立インフルエンザセンター会議」および 11 月に「第 2 回西太

平洋領域 WHO 協力センターフォーラム」に出席し、それぞれ WHO 協力センターと国立インフルエンザセンターの関係の再確認、および WHO 協力センターの役割の再認識と今後の方向性について議論した。[小田切孝人、渡邊真治、中村一哉、岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、桑原朋子、菅原裕美、佐藤 彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳]

### 6. ベトナム・ホーチミン・パスツール研究所におけるインフルエンザ株サーベイランスに関わる基本的な技術の技術支援

ベトナムにおけるインフルエンザ株サーベイランスの強化を目的に、ベトナム・ホーチミン・パスツール研究所にて、サーベイランスに関わる基本的な技術 (細胞培養、ウイルス分離、遺伝子解析、抗原性解析など) の技術指導および現地流行状況等の情報収集を行った。[白倉雅之]

### 7. 国際協力機構 (JICA) 研修への参画

JICA の主催する「ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」研修に講師として参画し、インフルエンザとインフルエンザワクチンについて講義を行った。[渡邊真治]

### 8. WHO Launching Tool for Influenza Pandemic Risk

Assessment に関する会議への参加

平成 28 年 5 月 4 日～5 日にスイス ジュネーブで開催された WHO Launching Tool for Influenza Pandemic Risk Assessment に関する会議に参加し、パンデミックを引き起こす可能性があるインフルエンザウイルスのリスク評価の方法と今後の対応について、他の WHO Influenza Collaborating Center、National Influenza Center などと協議した。[影山 努]

### 9. モンゴル National Influenza Center におけるインフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症診断に関する技術支援

モンゴル オルホン県、ダルハン・オール県の地方研究所において、これまで当センターで構築した RT-LAMP 法によるインフルエンザウイルスの亜型同定、ウイルス



性呼吸器感染症の検出についての技術供与を行った。[中内美名]

10. ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE) およびホーチミン・パスツール研究所の National Influenza Center におけるインフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症診断に関する技術支援

ベトナム NIC において、これまで当センターで構築したリアルタイム RT-PCR 法および RT-LAMP 法によるインフルエンザウイルスの亜型同定やウイルス性呼吸器感染症の検出をベトナム地方研究所へ導入することを目的とした共同研究を開始した。[高山郁代、影山 努]

11. 国際協力機構 (JICA) 研修への参画

JICA の主催する「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」研修に講師として参画し、インフルエンザワクチンの品質管理について講義を行った。[板村繁之]

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

WHO ERL の一員として7月及び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。また、WHO 主催によるワクチン製造所と ERL を含む関係者の電話会議に参加して情報提供を行った。[板村繁之、原田勇一]

## 研修業務

1. 平成 28 年度所内で実施された各種研修プログラムにおける講義

平成 28 年 4 月 13 日に実施された FETP 初期研修、平成 28 年 11 月 1 日に実施された医師卒後研修にて、それぞれ季節性および動物由来インフルエンザウイルスとワクチン開発の現状と問題点に関する講義を担当した。[渡邊真治、小田切孝人]

2. 平成 28 年度国立保健医療科学院ウイルス研修における講義および赤血球凝集抑制試験の技術研修  
平成 28 年 11 月 9 日に当該研修参加の地衛研職員を

対象にインフルエンザウイルスの講義を行った。また同 22 日に赤血球凝集抑制試験の技術研修を行った。[岸田典子、中村一哉、佐藤彩、白倉雅之、渡邊真治、小田切孝人]

3. 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 15 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およびマーカー入陽性コントロールを導入した遺伝子検査の精度管理に関する診断検査技術研修、RT-LAMP 法を用いた MERS・インフルエンザ遺伝子検査実習を行った。特に研修では、リアルタイム RT-PCR 法による検査結果の解釈方法やトラブルシューティングに重点を置いた。また、研修では各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、齊藤慎二]

4. インフルエンザの実験室診断についての研修

平成 28 年 7 月 11 日から 7 月 14 日まで、静岡市環境保健研究所より職員 1 名を招聘して、インフルエンザウイルスの分離・培養で使われる MDCK 細胞の維持管理法やウイルスの分離法、インフルエンザ遺伝子診断法などに関する技術研修を行なった。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二]

5. インフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症診断に関する技術指導

ベトナムバクマイ病院および国立小児病院において、リアルタイム RT-PCR 法および RT-LAMP 法によるインフルエンザウイルスの亜型同定、ウイルス性呼吸器感染症の検出について技術指導を行った。[影山 努、高山郁代、齊藤慎二]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

1. 欧文発表

1. Li C, Hatta M, Burke DF, Ping J, Zhang Y, Ozawa M, Taft AS, Das SC, Hanson AP, Song J, Imai M, Wilker

- PR, Watanabe T, Watanabe S, Ito M, Iwatsuki-Horimoto K, Russell CA, James SL, Skepner E, Maher EA, Neumann G, Klimov AI, Kelso A, McCauley J, Wang D, Shu Y, Odagiri T, Tashiro M, Xu X, Wentworth DE, Katz JM, Cox NJ, Smith DJ, Kawaoka Y. Selection of antigenically advanced variants of seasonal influenza viruses. *Nat Microbiol.* 2016 May 23;1(6):16058.
2. Ando T, Yamayoshi S, Tomita Y, Watanabe S, Watanabe T, Kawaoka Y. The host protein CLUH participates in the subnuclear transport of influenza virus ribonucleoprotein complexes. *Nat Microbiol.* 2016 May 16;1(8):16062
  3. Yamazaki W, Uemura R, Sekiguchi S, Dong JB, Watanabe S, Kirino Y, Mekata H, Nonaka N, Norimine J, Sueyoshi M, Goto Y, Horii Y, Kurogi M, Yoshino S, Misawa N. Campylobacter and Salmonella are prevalent in broiler farms in Kyushu, Japan: Results of a 2-year distribution and circulation dynamics audit. *J Appl Microbiol.* 2016 Jun;120(6):1711-22.
  4. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Shimazu Y, Shimomura T, Watanabe S, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir due to a dual H275Y/G147R substitution, Japan, March 2016. *Euro Surveill.* 2016 Jun 16;21(24).
  5. Suzuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Nobusawa E. Development of an Influenza A Master Virus for Generating High-Growth Reassortants for A/Anhui/1/2013(H7N9) Vaccine Production in Qualified MDCK Cells. *PLoS One.* 2016 Jul 25;11(7):e0160040
  6. Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Nakajima K, Kitazawa M, Anraku M, Takayama I, Sangsriratanakul N, Komura M, Sato Y, Asanuma H, Takashita E, Komase K, Takehara K, Tashiro M, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. Tmprss2 Independency for Haemagglutinin Cleavage In Vivo Differentiates Influenza B Virus from Influenza A Virus. *Sci Rep.* 2016 Jul 8;6:29430.
  7. Hurt AC, Besselaar TG, Daniels RS, Ermetal B, Fry A, Gubareva L, Huang W, Lackenby A, Lee RT, Lo J, Maurer-Stroh S, Nguyen HT, Pereyaslov D, Rebelo-de-Andrade H, Siqueira MM, Takashita E, Tashiro M, Tilmanis D, Wang D, Zhang W, Meijer A. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2014-2015. *Antiviral Res.* 2016 Aug 132:178-85.
  8. Takashita E, Ejima M, Ogawa R, Fujisaki S, Neumann G, Furuta Y, Kawaoka Y, Tashiro M, Odagiri T. Antiviral susceptibility of influenza viruses isolated from patients pre- and post-administration of favipiravir. *Antiviral Res.* 2016 Aug 132:170-7.
  9. Sarawar S, Hatta Y, Watanabe S, Dias P, Neumann G, Kawaoka Y, Bilsel P. M2SR, a novel live single replication influenza virus vaccine, provides effective heterosubtypic protection in mice. *Vaccine.* 2016 Sep 34(42):5090-8.
  10. Shimasaki N, Hara M, Kikuno R, Shinohara K. A highly sensitive assay using synthetic blood containing test microbes for evaluation of the penetration resistance of protective clothing material under applied pressure. *Biocontrol Sci.*, 2016;21(3):141-152.
2. 和文発表
1. 高下恵美: オセルタミビル・ペラミビル耐性インフルエンザの状況と対処法は？ インフルエンザ診療ガイド 2016-17. 181-4, 2016.
  2. 高下恵美: 第9回インフルエンザ制圧会議. 感染・炎症・免疫. 46:90-2, 2016.
  3. 高下恵美: 第9回インフルエンザ制圧国際会議 (Options for the Control of Influenza IX)参加報告. インフルエンザ. 18:64-5, 2017.
  4. 渡邊真治, 藤崎誠一郎, 中村一哉: 香港型インフルエンザウイルスの最近の変異 (性状変化) . インフルエンザ. 17:37-44, 2016.
  5. 影山 努. インフルエンザウイルス遺伝子検査の実力. 日本医事新報 4830 42-46. 2016
  6. 影山 努, 中内美名, 高山郁代, 齊藤慎二, 小田切孝人. 鳥・ブタインフルエンザの流行状況について. 病原微生物検出情報 37(11) 220-221, 2016

## II. 学 会 発 表

### 1. 国際学会

1. Takashita E, Ejima M, Ogawa R, Fujisaki S, Neumann G, Furuta Y, Kawaoka Y, Tashiro M, Odagiri T. Antiviral susceptibility of influenza viruses isolated from patients pre-and post-administration of favipiravir. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
2. Kishida N, Imai M, Ainai A, Saito R, Nakamura K, Kuwahara T, Fujisaki S, Takashita E, Shirakura M, Kashiwagi Y, Tashiro M, Odagiri T, Watanabe S. Evaluation of efficacy of an inactivated high growth reassortant whole-virus A(H3N2) influenza vaccine in ferret. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
3. Yasuhara A, Yamayoshi S, Ito M, Uraki R, Nakatsu S, Oishi K, Soni P, Takenaga T, Kawakami C, Takashita E, Sasaki T, Ikuta K, Yamada S, Kawaoka Y. Characterization of the antigenic properties of influenza A(H1N1)pdm09 virus. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
4. Kawakami C, Fujisaki S, Takashita E, Sugawara H, Shimizu K, Ozawa H, Momoki T, Saikusa M, Usuku S, Sasao T, Watanabe S, Odagiri T. Characterization of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from hospitalized cases in the 2015/16 season. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
5. Nakamura K, Shirakura M, Fujisaki S, Kishida N, Kuwahara T, Takashita E, Takayama I, Nakauchi M, Chadha M, Potdar V, Upadhyay BP, Shakya G, Odagiri T, Kageyama T, Watanabe S. Characterizations of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from patients including fatal or severe cases in Nepal and India, early 2015. Options for the Control of Influenza IX. Chicago, USA. August 2016.
6. Ando T, Yamayoshi S, Watanabe S, Watanabe T, Kawaoka Y. Involvement of CLUH in the subnuclear transport of influenza progeny ribonucleoprotein complexes. Options for the Control of Influenza IX. Chicago, USA. August 2016.
7. Takayama I, Oba K, Semba S, Nakauchi M, Takahashi H, Yonekawa T, Segawa Y, Watanabe H, Notomi T, Odagiri T, Kageyama T. The development of point-of-care test to identify human influenza and respiratory syncytial virus using novel real-time direct RT-LAMP assay with micro-fluidic chip. Option for the control of Influenza IX. Chicago. 24-28 August 2016
8. Van VTT, Binh NG, Ngan LT, Thuy PTP, Co DX, Phuong TT, Vuong BM, Dung LT, Cuong DD, Phuong PT, Thanh DV, Tuan ND, Takasaki J, Takayama I, Nakajima N, Kageyama T. Rapid detection of influenza and other respiratory viruses using novel real-time direct RT-LAMP assay at Bach Mai Hospital in Hanoi, Vietnam. Option for the control of Influenza IX. Chicago. 24-28 August 2016
9. Naranzul T, Darmaa B, Bayasgalan N, Nyamadawa P, Nakauchi M, Kageyama T. Surveillance of the respiratory viruses among children with Severe Acute Respiratory illness in Mongolia. Option for the control of Influenza IX. Chicago. 24-28 August 2016
10. Suzuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Nobusawa E. Development of a high-growth PR8 master virus for influenza vaccine production in cell culture systems. Options IX for The Control of Influenza, Chicago 24-28 August 2016.
11. Takahashi H, Hamamoto I, Fujimoto T, Horikoshi F, Ochiai S, Gomi Y, Uemura K, Tanabe T, Naruse T, Minari K, Odagiri T, Nobusawa E. Development and characterizations of cell culture candidate vaccine viruses for production of cell culture-based seasonal influenza vaccines: Feasibility studies in Japan. Options IX for the Control of Influenza, Chicago, USA. August 2016.
12. Harada Y, Shimasaki N, Ochiai M, Odagiri T, Itamura S. An evaluation of single radial immune-diffusion assay to determine the HA content of two influenza B virus components in quadrivalent influenza vaccine. Options for the Control of Influenza IX, Chicago, August 2016.
13. Sato K, Asanuma H, Ato M, Odagiri T, Tashiro M.

- Itamura S Influenza vaccines induce NF-kB activations and enhancement of TLR expressions in macrophages. International Conference on Immunology 2016, Australia, August 2016.
14. Kono N, Ohnishi K, L. Sun, Toh H, Itamura S Comprehensive analysis of the antibody repertoire in response to egg-derived and cell-derived influenza vaccine using next generation sequencer. Options for the Control of Influenza IX, Chicago, August 2016.
  15. Kaida A, Iritani N, Yamamoto SP, Kanbayashi D, Hirai Y, Kohdera U, Togawa M, Amo K, Shiomi M, Nishigaki T, Kageyama T, Kubo H. Single genetic clades of EV-D68 strains in 2010, 2013, and 2015 in Osaka City, Japan. 19th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology. Lisbon. 14-17 September, 2016
  16. Nakauchi M. Real-time Direct RT-LAMP method for the diagnosis of the respiratory tract viral infection. International Conference, Tackling Infectious Diseases, Mongolia, 21-22 October, 2016
  17. Shinohara K, Shimasaki N, Morikawa H An improved evaluation method of protection performance of medical face mask against penetration by liquid splash. 18th International Conference of International Society for Respiratory Protection, Yokohama, November 2016.
  18. Nakamura K, Shirakura M, Fujisaki S, Kishida N, Kuwahara T, Takashita E, Takayama I, Nakauchi M, Chadha M, Potdar V, Upadhyay BP, Shakya G, Odagiri T, Kageyama T, Watanabe S. Earlier detection of an ancestral variant of influenza A(H1N1)pdm09 subclade 6B.1 virus from Nepalese and Indian outbreak patients. 6th China-Japan Bilateral Symposium on All Influenza Viruses. Beijing, China. March 2017.
2. 国内学会
1. 大場邦弘, 小田智三, 高山郁代, 中内美名, 影山 努. Multiplex POC 遺伝子検査を利用したインフルエンザおよびRSウイルス感染症の地域感染症サーベイランス網構築への試み. 第90回日本感染症学会総会・学術講演会. 仙台. 2016年4月
  2. 嶋崎典子, 板村繁之, 小田切孝人. 4価インフルエンザHAワクチンB型2系統株HA抗原量の新規測定法の開発検討. 第30回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、山形、2016年6月.
  3. 板村繁之. インフルエンザワクチンの3価から4価への移行に伴う製剤としての課題. 第30回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、山形、2016年6月.
  4. 浜本いつき, 高橋仁, 小田切孝人, 信澤枝里 細胞培養インフルエンザワクチン製造用ウイルスの分離に用いる「NIID-MDCK細胞」の迷入ウイルス排除能の検討 第30回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 山形 2016年6月
  5. 高橋仁, 藤本貴男, 堀越史朗, 落合晋, 五味康行, 浜本いつき, 小田切孝人, 信澤枝里 細胞培養インフルエンザワクチンのHA抗原量測定法の確立 第30回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 山形 2016年6月
  6. 信澤枝里 日本における細胞培養季節性インフルエンザワクチン実用化への取り組み 第30回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 山形 2016年6月
  7. 嶋崎典子, 森本美智子, 岡上晃, 内田幸子, 小柴朋子, 角田薫, 田辺文憲, 加藤伊陽子, 荒川創一, 篠原克明. 防護服素材の防護性能評価のための滴下ウイルス液の浸透性解析. 日本防菌防黴学会第43回年次大会、東京、2016年9月.
  8. Kishida N, Imai M, Ainai A, Saito R, Nakamura K, Kuwahara T, Fujisaki S, Takashita E, Shirakura M, Kashiwagi Y, Tashiro M, Odagiri T, Watanabe S. Evaluation of efficacy of an inactivated whole-virus A/Victoria/361/2011 (IVR-165) (H3N2) influenza vaccine in ferret. 第64回日本ウイルス学会 札幌 2016年10月
  9. Kawakami C, Fujisaki S, Takashita E, Saikusa M, Usuku S, Watanabe S. Characterization of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from hospitalized cases in the 2015/16 season. 第64回日本ウイルス学会 札幌 2016年10月
  10. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Shimazu Y, Shimomura T, Doi

- I, Watanabe S, Odagiri T, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of influenza A(H1N1)pdm09 viruses exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir in the 2015/16 season. 第 64 回日本ウイルス学会 札幌 2016 年 10 月
11. Watanabe S, Nakamura K, Kishida N, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Sato A, Ogawa R, Sugawara H, Akimoto M, Miura H, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Odagiri T. The Influenza Surveillance Group of Japan. Characterizations of circulating influenza viruses in the 2015/2016 season and vaccine viruses for the 2016/17 season. 第 64 回日本ウイルス学会 札幌 2016 年 10 月
  12. Yasuhara A, Yamayoshi S, Ito M, Uraki R, Nakatsu S, Oishi K, Soni P, Takenaga T, Kawakami C, Takashita E, Sasaki T, Ikuta K, Yamada S, Kawaoka Y. Characterization of the antigenic properties of influenza A(H1N1)pdm09 virus. 第 64 回日本ウイルス学会 札幌 2016 年 10 月
  13. Ando T, Yamayoshi S, Tomita Y, Watanabe S, Watanabe T, Kawaoka Y. Analysis of the regulatory mechanisms of the subnuclear transport of influenza progeny ribonucleoprotein complexes. 第 64 回日本ウイルス学会 札幌 2016 年 10 月
  14. 高山郁代, 大場邦弘, 仙波晶平, 中内美名, 高橋 仁, 齊藤慎二, 米川俊広, 瀬川雄司, 渡辺英俊, 納富継宣, 小田切孝人, 影山 努. インフルエンザおよび RS ウイルスの検出が可能な新規 real-time direct RT-LAMP 法とマイクロ流路チップを組み合わせたポイントオブケア検査の開発. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌. 2016 年 10 月
  15. 中内美名, Naranzul T, Darmaa B, Namuutsetseg B, Nymadawa P, 小田切孝人, 影山 努. モンゴルの小児入院患者における重症急性呼吸器感染症の病原体の探索. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月
  16. 影山 努, Van VTT, Binh NG, Phuong TT, Thuy PTP, Than DV, Co DX, Phuong PT, Cuong DD, Ngan LT, Vuong BM, Dung LT, Thac PT, 高崎 仁, 高山郁代, 齊藤慎二, 小田切孝人, 中島典子. ベトナムハノイ市にあるバクマイ病院に入院したインフルエンザ様疾患の病因について. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月
  17. 齊藤慎二, 佐野芳, 鈴木忠樹, Elly Van Riet, 相内章, 大原有樹, 田畑耕史郎, 藤井信, 高橋宜聖, 竹山春子, 長谷川秀樹. インフルエンザウイルスに対する組換え分泌型多量体 IgA 抗体の性状解析. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月
  18. Shimasaki N, Odagiri T, Itamura S. New lineage-specific monoclonal antibodies to measure the HA content of two influenza B virus components in quadrivalent influenza vaccine. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月.
  19. 浅沼秀樹, 立石恒一郎, 佐藤佳代子, 長谷川秀樹, 前山順一, 伊保澄子, 山本三郎, 藤橋浩太郎, 山本典生, 小田切孝人. 新規粘膜アジュバントとしての CpG-ODN G9.1 の経鼻インフルエンザワクチンへの応用 第 20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月
  20. 山本典生, 立石恒一郎, 佐藤佳代子, 長谷川秀樹, 前山順一, 伊保澄子, 山本三郎, 藤橋浩太郎, 浅沼秀樹, 小田切孝人. CpG-ODN G9.1 併用経鼻インフルエンザ VLP ワクチンの有効性に関する検討 第 20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月
  21. 佐藤佳代子, 浅沼秀樹, 小田切孝人, 田代真人, 板村繁之. ヒト由来マクロファージ様細胞の活性化能に基づくインフルエンザワクチンの免疫原性定量法の構築第 20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月
  22. 高下恵美, 小川理恵, 藤崎誠一郎, 白倉雅之, 三浦秀佳, 中村一哉, 岸田典子, 桑原朋子, 菅原裕美, 佐藤彩, 秋元未来, 渡邊真治, 小田切孝人: 2015/16 シーズンに検出されたオセルタミビル・ペラミビルに強い耐性を示すインフルエンザウイルス. 第 48 回日本小児感染症学会 岡山 2016 年 11 月
  23. 川上千春, 高下恵美, 七種美和子, 豊澤隆弘: 入院・重症例における AH1pdm09 インフルエンザウイル

- スの解析 (2015/16 シーズン) . 第 48 回日本小児感染症学会 岡山 2016 年 11 月
24. 大場邦弘, 遠藤翔太, 名井栄実菜, 秋山 聡, 生田陽, 小花奈都子, 川口隆弘, 林 健太, 野田雅裕, 吉田知広, 住田朋子, 香取竜生, 小鍛治雅之, 小田智三, 高山郁代, 齊藤慎二, 中内美名, 高橋 仁, 影山 努. 重複して呼吸器ウイルスが検出された小児の急性呼吸器感染症 22 例の検討. 第 48 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 岡山. 2016 年 11 月
25. Tateishi K, Asanuma H, Matsushita M. Isolation and characterization of ferret microfibril-associated glycoprotein 4 第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 年 12 月
26. Asanuma H, Tateishi K, Hasegawa H, Yamamoto N, Maeyama J, Iho S, Yamamoto S, Fujihashi K. Effectiveness of A Novel Nasal Influenza Vaccine Consisting of HA VLP and CpG-ODN G9.1 第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 年 12 月
27. Kawabata M, Ohori J, Tsuruhara A, Sugita G, Asanuma H, Kurono Y, Fujihashi K. Nasal pFL And CpG ODN Enhances Pre-existing Influenza Virus-Specific Secretory IgA Ab Responses In Aged Mice 第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 年 12 月
28. Sato K, Asanuma H. Influenza vaccines induce NF- $\kappa$ B and ISG activations through different signaling pathways 第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 年 12 月
29. 桑原朋子. 鶏卵分離埼玉株 NA で特徴的に認められたアミノ酸置換. 6th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄 2017 年 1 月
30. 高下恵美. 日本国内で検出された A(H1N1)pdm09 二重耐性変異ウイルスの性状解析. 6th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄 2017 年 1 月
31. 佐藤佳代子, 浅沼秀樹, 小田切孝人, 田代真人, 板村繁之. ヒト由来マクロファージ様細胞の活性化能に基づくインフルエンザワクチンの免疫原性定量法の構築第 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月
32. 浅沼秀樹, 立石恒一郎, 長谷川秀樹, 佐藤佳代子, 前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎、山本典生、小田切孝人. 経鼻インフルエンザワクチンに用いる新規 CpG アジュバント (G9.1) の有用性 第 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月
33. 影山 努. インフルエンザ検査の精度管理. 平成 28 年度希少感染症診断技術研修会. 東京. 2017 年 2 月
34. 影山 努. 鳥インフルエンザ H5N6 ウイルスの流行状況と性状について. 平成 28 年度希少感染症診断技術研修会. 東京. 2017 年 2 月
35. 嶋崎典子, 篠原克明、加藤伊陽子、田辺文憲、内田幸子、小柴朋子、荒川創一、森本美智子. 防護服素材の局所圧力負荷による防護性能劣化の検討. 第 32 回日本環境感染学会総会・学術集会、神戸、2017 年 2 月.