

20. インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター

センター長 長谷川 秀樹

概要

当センターは、令和3年4月組織改編により旧インフルエンザウイルス研究センター第1室、第4室、第5室、第6室及び、ウイルス第三部第4室より編成された。インフルエンザウイルス及び呼吸器系ウイルスに関する研究・開発業務及び国の新型インフルエンザ等対策への支援と緊急対応体制の維持強化、WHO インフルエンザ協力センターとして海外流行株情報の収集機能の強化、アジア地域と連携したサーベイランス網の活性化と、技術支援および世界インフルエンザ監視対応体制(GISRS)の運営にコアメンバーとして参画、WHO および国内インフルエンザワクチン株の選定、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、5室体制(第一室(ウイルスサーベイランス)、第二室(呼吸器系ウイルスの調査、研究)、第三室(季節性・新型ワクチン製造株の開発)、第四室(細胞培養ワクチン開発)、第五室(経鼻接種ワクチン開発))で業務、研究活動を行っている。

人事異動では、令和3年4月1日、松山州徳が組織改編に伴いウイルス第三部第4室が当センター第2室として改編されたのに伴い当センター第2室室長として異動した。齋藤慎二が感染病理部へ異動した。令和3年6月1日、富田有里子が主任研究官として採用された。令和3年7月1日桑原朋子がウイルス第三部へ異動した。令和3年12月、小林淳が任期付き(若手育成型)研究員として採用された。また令和3年4月1日、影山努が組織改編に伴い当センター第2室が危機管理研究センターへ改編されたのに伴い異動となった。

研究開発業務としては、季節性ワクチン製造株開発のため、国内の医療機関から提供された臨床検体から、鶏卵を用いてウイルス(親株)を分離し、WHO のワクチン製造株開発機関に送付した。提供した親株から開発された高増殖リアソータントウイルスについて、ワクチン製造株候補としての妥当性を評価した。また新型コロナウイルス対策として、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)変異株に対する COVID-19 治療薬の有効性評価、動物を用いた感染性の検討や伝播性

実験系の確立を行なった。

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抗体と流行株との反応性を評価した human serology を毎年継続し、WHO ワクチン株選定に貢献した。また、近々にわが国に導入実用化が予定されている経鼻弱毒生ワクチンの力価測定法の開発を進めた。さらに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、細胞培養ワクチン製造株の開発、細胞培養ワクチン中の HA 抗原量測定法の開発を進めた。次世代ワクチンとして期待されている経鼻粘膜ワクチンの抗体応答の評価法の開発にも取り組んだ。

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、解析結果を地衛研および周辺諸国へ還元した。また感染症疫学センターHP を通じて情報還元した。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 ワクチン推奨株や海外情報も考慮して令和4年度のワクチン株の選定を行った。国内各地において、家禽、野鳥及び環境中からの H5N1 及び H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出報告があり、分離株の遺伝子解析及び抗原性解析を行い、WHO インフルエンザワクチン株選定会議資料として提出した。

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い、WHO ワクチン推奨株の選定に貢献した。また、WHO の薬剤耐性サーベイランス強化ワーキング会議、パンデミックリスク評価法に関する会議にコアメンバーとして参加し、研究開発情報や国内サーベイランスから得られた情報を提供し、WHO の政策策定にも貢献し、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。第2室では主に呼吸器系ウイルスに係る調査及び研究、並びにサイトカイン及びケモカイン製剤に係るものを担当した。

FETP 初期研修および医師卒後研修ではインフルエンザ

流行状況やワクチン選定についての講義を行った。また感染研一般公開においては、インフルエンザに関する話題提供を行った。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから10年以上が経過し新たにインフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センターとして生まれ変わり、研究開発業務、サーベイランス業務、WHO 協力センターとしての国際貢献、国内新型インフルエンザ対策への貢献、呼吸器系ウイルスの調査及び研究、広範な研究業務をセンター一丸となって推進し、WHO およびわが国のインフルエンザ及び呼吸器系ウイルス行政を支援している。引き続き、センター機能を適切に維持するため、適正な人材の確保と若手研究者の育成に力を入れていきたい。

業績

調査・研究

1. インフルエンザおよび呼吸器系ウイルスに関する研究

1. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行下における呼吸器ウイルスの流行状況

COVID-19 は、2020 年 1 月に国内の第一例目が報告され、その後、全国に広がった。インフルエンザをはじめとする呼吸器感染症と COVID-19 との同時流行が心配されたことから、COVID-19 流行下における呼吸器感染症ウイルスの検出状況を調べた。横浜市で COVID-19 流行前後に呼吸器疾患患者から検出されたウイルスを比較した結果、COVID-19 流行下では、全年齢層で、インフルエンザをはじめとする代表的な呼吸器感染症ウイルスの検出率が低下していた。一方、10 歳未満の小児では、COVID-19 の流行拡大後も新型コロナウイルスの検出は限定的であったが、ライノウイルスの検出率が著しく上昇し、例年の 3 倍以上となっており、COVID-19 流行下で 10 歳未満の小児のライノウイルス感染リスクが上昇したことが明らかになった。[高下恵美、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹、川上千春*、百木智子*、七種美和子*、清水耕平*、小澤広規*、熊崎真琴*、宇宿秀三*、田中伸子*、大久保一郎* (*横浜市衛生研究所)、河岡義裕** (**東京大学医科学研究所・国立国際医療研究センター)]

2. 鳥インフルエンザウイルスに対する抗インフルエンザ国内承認薬の有効性

COVID-19 の流行により、季節性インフルエンザの流行は例年と比べて極めて限定的であり、患者報告数も非常に少なかったが、高病原性鳥インフルエンザの発生が国内外で多数報告され、世界的に新型インフルエンザの発生リスクが上昇した。そこで、新型インフルエンザパンデミックの原因となり得る鳥インフルエンザウイルスについて、抗インフルエンザ国内承認薬の有効性を評価した。日本国内で分離された A(H5)、A(H7)および A(H9)鳥インフルエンザウイルス分離株について抗インフルエンザ国内承認薬 (オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビル、バロキサビル、ファビピラビル) に対する感受性を調べた。その結果、すべての試験株は承認薬に対して感受性を示した。したがって、日本国内で鳥インフルエンザの感染事例が発生した場合、国内承認薬が有効であることが確認された。[高下恵美、森田博子、永田志保、白倉雅之、藤崎誠一郎、三浦秀佳、高山郁代、有田知子、鈴木康司、岸田典子、中村一哉、佐藤彩、秋元未来、菅原裕美、影山努、渡邊真治、長谷川秀樹、山岡政典 (兵庫県立健康科学研究所)、谷川太一朗*、常國良太*、峯淳貴*、佐久間咲希*、内田裕子* (*農業・食品産業技術総合研究機構)、柴田明弘**、岩中麻里** (**動物検疫所)、全国地方衛生研究所]

3. 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 変異株に対する COVID-19 治療薬の有効性

COVID-19 治療薬 (中和抗体薬、抗ウイルス薬) について、SARS-CoV-2 変異株 (アルファ、ベータ、ガンマ、デルタ、オミクロン) に対する有効性を評価した。中和抗体薬 (バムラニビマブ、エテセビマブ、カシリビマブ、イムデビマブ、チキサゲビマブ、シルガビマブ、ソトロビマブ) が変異株の感染を阻害するかどうかを調べた結果、バムラニビマブ・エテセビマブとカシリビマブ・イムデビマブのオミクロン株に対する中和活性は、著しく低いことが明らかになった。一方、チキサゲビマブ・シルガビマブとソトロビマブは、オミクロン株に対して中和活性を維持していた。また、抗ウイルス薬 (レムデシビル、モルスピラビル、ルフォトレビル) は、すべての変異株の増殖を抑制することが示された。[高下恵美、森田博子、永田志保、藤崎誠一郎、三浦秀佳、渡邊真治、長谷川秀樹、竹田誠 (ウイルス三部)、山吉誠也*、坂井 (田川) 優子*、伊藤睦美*、岩附 (堀本) 研子*、今井正樹*、河岡義裕*、永井博之*、齋藤真*、安達英輔*、四柳宏* (*東京大学医科学

研究所)、岩元(木下)典子**、大曲貴夫**、前田賢次**、満屋裕明**(**国立国際医療研究センター)、Shiho Chiba***、Peter Halfmann***(**University of Wisconsin–Madison)、David Sullivan****、Andrew Pekosz****(**Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health)]

4. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)のハムスターを用いた伝播性実験系の確立

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)のヒトへの感染リスク評価実験の一環として、感染モデル動物であるハムスターを用いて、ウイルス飛沫伝播性を検討した。個体間で直接触れないように非接触型の専用ケージを設計した。武漢株、欧州由来株、Alpha 株及び Delta 株をハムスターに経鼻接種し、感染 1 日後に、隣接するケージに naïve なハムスターを収納し、継時的に鼻腔洗浄液を採取し、鼻腔洗浄液中のウイルス RNA 定量及びウイルス力価を測定した。その結果、武漢株、欧州由来株、Alpha 株、Delta 株では、曝露個体においてウイルスが検出され、感染個体から効率良くウイルスが伝播することが明らかとなった。以上の結果から、ハムスターを用いた SARS-CoV-2 の伝播性評価系を確立することが出来た。[白倉雅之、鈴木康司、有田知子、渡邊真治、長谷川秀樹]

5. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)のフェレットへの感染性の検討

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の感染モデル動物の探索を目的として、インフルエンザウイルスの感染モデル動物であるフェレットを用いて感染性を検討した。武漢株、Delta 株及び Omicron 株(BA.1)をフェレットに経鼻接種し、継時的に鼻腔洗浄液を採取し、鼻腔洗浄液中のウイルス RNA 定量及びウイルス力価を測定した。その結果、武漢株、Delta 株感染個体では、体重減少などの臨床症状は認められなかったが、鼻腔洗浄液中にウイルス RNA 及びウイルスが検出され、感染増殖が認められた。さらに、血清中の中和抗体価を測定した結果、武漢株、Delta 株ともに、中和抗体が検出された。一方、Omicron 株(BA.1)感染群では、感染個体からウイルス RNA 及びウイルスは検出されず、血清中における中和抗体も検出されなかった。以上の結果から、Omicron 株(BA.1)はフェレットにおいて感染性が異なることが示唆された。

[白倉雅之、鈴木康司、有田知子、岸田典子、浅沼秀樹、渡邊真治、長谷川秀樹]

6. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)のハムスター抗血清を用いた抗原性解析

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の各変異株の抗原性を調べるために、感染モデル動物であるハムスター抗血清を使用し、抗原性解析を試みた。武漢株、欧州由来株、Alpha 株、Beta 株、Gamma 株、Delta 株、Omicron 株 BA.1、BA.2 を各々、ハムスターに経鼻接種し、感染約 2 週間後に全採血を行い、血清を採取した。これらの抗血清を用いて中和試験を実施した結果、武漢株に対する抗血清は、Beta 株、Omicron 株 BA.1、BA.2 には反応しなかった。また、Omicron 株に対する抗血清は、他の株には反応しなかった。Omicron 株と以前の株との抗原性の乖離が明らかとなった。これらの解析結果は、既に報告されているヒトのワクチン接種者及び SARS-CoV-2 感染者から採取した血清を用いた試験結果と概ね一致した。以上のことから、SARS-CoV-2 の抗原性解析におけるハムスター抗血清の有用性が示された。

[有田知子、鈴木康司、白倉雅之、渡邊真治、長谷川秀樹]

7. 新型コロナウイルスの抗原性解析法の開発

現在の新型コロナウイルスの抗原性解析は細胞を用いており、煩雑な工程で時間もかかる。より簡便に短時間で抗原性解析を行うために、インフルエンザウイルスで用いられる赤血球凝集(HA)/赤血球凝集抑制(HI)試験法を基に、粒子凝集(PA)/粒子凝集抑制(PAI)試験法の開発を行った。新型コロナウイルスは赤血球凝集活性が低いため、赤血球の代わりにラテックスビーズを用いた。ビーズ表面には当該ウイルス感染時の受容体であるヒトアンジオテンシン変換酵素 2(hACE2)を固定化した。hACE2 を固定化したビーズでは WK-521 株、アルファ株、デルタ株、オミクロン株等、試験したすべての分離株で粒子凝集パターンが観察された。一方、hACE2 を固定化しなかったビーズでは凝集パターンが観察されず、沈降パターンのみが観察された。この結果から hACE2 を固定化したビーズは新型コロナウイルスと特異的に結合して凝集し、当該ウイルス力価(PA 価)を測定できることが分かった。次に、この PA 試験法に、新型コロナウイルス感染ハムスター血清を添加することで粒子凝集抑制が起こるかを確認した。ウイルスに感染血清を添加して一定時間反応後、

hACE2 固定化ビーズを添加すると粒子凝集抑制パターンが観察された。一方、ウイルス未感染血清を用いた場合には粒子凝集抑制パターンが観察されず、粒子凝集パターンのみが観察された。この結果から、ウイルス感染ハムスター血清がウイルスとビーズの結合を阻害し、血清の中和抗体価(PAI 価)を測定できることが分かった。代表的な分離株とそれらの感染ハムスター血清を用いて PAI 試験を行った。試験で得られた PAI 価を比較することでオミクロン株とそれ以前の株における明確な抗原性の差異が明らかになった。[小林淳、中村一哉、白倉雅之、有田知子、鈴木康司、浅沼秀樹、渡邊真治、松山州徳、長谷川秀樹]

8. コロナウイルスの性状解析

新型コロナウイルスの変異株は、今後も発生し続けることが予想される。国立感染症研究所では患者検体から変異株を分離し、遺伝子配列やウイルスの感染性、抗原性や、動物を用いた病原性の解析をおこなっている。我々もその一端を担い、ウイルスの物理化学的性質の解析をおこなっている。ウエスタンブロット法を用いて、ウイルスのスパイク蛋白の三量体の安定性や温度感受性の解析、及び活性化メカニズムの解析をおこなっている。これまでにウイルスの変異にともなうスパイク蛋白のわずかな性状の変化を検出することに成功している。[小林淳、富田有里子、高山郁代、松山州徳]

II. インフルエンザおよび呼吸器系ウイルス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、上昇倍率、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、2021/22 シーズン(令和 3 年度)の日本の季節性インフルエンザワクチン接種を受けた成人層 24 人および高齢者層 24 人のそれぞれペア血清を用いて、ワクチン製造株および流行株に対する反応性を A(H1N1)pdm09 と B ビクトリア系統については赤血球凝集抑制(HI)試験で、A(H3N2)については HI 試験で実施することが困難であるため中和試験で評価した。ワクチン製造株の A/Victoria/1/20 (IVR-217) (H1N1) pdm09 と B/Victoria/705/18 (BVR-11) (ビクトリア系統)株に対して、80HI 価以上を示した成人層と高齢者層の血清を試験に使用した。A(H1N1)pdm について

は、遺伝子クレード 5a.2 のワクチン株の細胞分離株 Wisconsin/588/19 を基準とする解析において、ワクチン株と同じ 5a.2 クレードに属する株 India/PUN-NIB323546/21 に対してワクチン接種者血清の反応性が低下した。これは、抗原部位 Sb の A186T と Q189E のアミノ酸置換が影響を及ぼしている可能性が考えられた。ワクチン株とクレードの異なる 5a.1 に属する流行株とはよく反応したため、過去の感染やワクチンによる免疫の影響が考えられた。これに対して、アメリカの小児(3-8 歳)のワクチン接種血清では 5a.1 の株に対して反応性が低かった。これは過去に 5a.1 株のワクチンを受けていない、または感染履歴が無いことによる影響が考えられた。アメリカ CDC の解析データ報告によるとワクチン接種や感染の割合が低いと考えられる 3 歳未満の乳幼児のワクチン接種血清は、5a.1 株に対してはほとんど反応しなかった。A(H3N2) については、2a1b.2a.1 のワクチン株 Cambodia/E0826380/20(細胞分離)を基準とする解析において、ワクチン接種者血清は 2a1b.2a.1 の流行株と極めてよく反応し、2a1b.2a.2 の流行株とも比較的良好に反応した。B ビクトリア系統流行株については、1A.3 クレードのワクチン株 Washington/02/19(細胞分離)を基準とする解析において、ワクチン接種者血清は 1A.3a.1 と 1A.3a.2 のいずれのクレードの株とも比較的良好に反応した。しかしながら、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B ビクトリア系統のいずれも、卵分離のワクチン株を基準にすると流行株との反応性は低く、ワクチン製造株の卵順化による抗原性の変化が影響しているためと考えられた。また、米国から入手したワクチン接種後ヒト血清についても同様の評価を行ったところ、米国のワクチン接種者血清の抗体幾何平均値は、ワクチン接種後に高い上昇倍率を示したのに対して、日本のワクチン接種者血清のその上昇倍率は極めて低かった。ワクチン効果増強のためには日本のワクチンの低い免疫原性を改善することが必須であると考えられる。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の議論に際し、有用な資料として活用された。[岸田典子、中村一哉、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、高下恵美、森田博子、永田志保、菖蒲川由郷*、齋藤玲子*(*新潟大学国際感染医学講座)、渡邊真治、長谷川秀樹]

2. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)ワクチン開発のための

動物実験モデルの構築に関する研究

世界的な SARS-CoV-2 のパンデミックの発生に伴い、新規ワクチン開発につながる動物実験系の構築を目指し、フェレット、ハムスター等を用い、SARS-CoV-2 を感染させた場合のウイルスの増殖性、ならびに免疫応答に関する解析を行っている。これまでにフェレットを用いた SARS-CoV-2 感染後のウイルスの増殖性ならびに伝播性に関する検討と、SARS-CoV-2 感染ハムスターの伝播性に関する検討、さらにマウスを用い、SARS-CoV-2 の感染部位の違いによるウイルスの増殖性の検討を行った。フェレットを用いた検討では重篤な症状は認められず、感染7日後の肺を中心とした下気道の病理組織学的解析においても、重篤な症状につながる病変は認められなかった。また伝播性についても直接接触がない場合にはほぼ伝播が認められなかった。一方、ハムスターを用いた伝播性の検討では、多くの株で容易に伝播することが明らかとなった。マウスでは多くの株に感染性が認められないため、馴化した株を用いて感染性の検討を行った。その結果、感染容量が多い場合に致死的になるウイルス量を上気道に限局的に感染させると、インフルエンザ感染と同様に上気道で顕著なウイルス増殖を示した後に、下気道で増殖し、その後、上・下気道ともにウイルスが排除され回復した。これらの感染モデルはワクチン開発時の感染実験に有用である。

[白倉雅之、岸田典子、渡邊真治、有田知子、鈴木康司、浅沼秀樹、長谷川秀樹、永田典代*、岩田奈織子*、志和 希*、鈴木忠樹*(感染病理部*)]

3. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)ワクチン開発のための新規ワクチンアジュバントに関する検討

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)ワクチンに使用可能な有用なアジュバントの検討を行っている。これまでに、血液・安全性研究部で構築されたワクチンの安全性をスクリーニングする検査手法を応用し、新たなアジュバントとしてのポテンシャルを有する物質の探索を行った結果、免疫増強効果が見込まれるポリマー分子を発見した。インフルエンザ抗原もしくは SARS-CoV-2 抗原をこの分子とともにマウスに経鼻投与したところ、鼻腔における特異的 IgA 誘導の増強と、それと 관련된感染防御効果が認められた。そこで現在、ハムスター、フェレットならびにサルにおいても同様の免疫誘導増強効果と感染防御効果が認められるかどうかについて検討を進めている。[浅沼秀樹、白倉雅之、渡邊真治、長谷川秀樹、前山

順一*、佐々木永太*(血液・安全性研究部*)、宮崎隆(東興薬品工業)]

4. 細胞培養ワクチン株の開発

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の基盤確立を目的とし、細胞培養ワクチン株の開発を行った。2020/21 シーズンは、SARS-CoV-2 の世界的流行のため、インフルエンザの国内での流行は非常に限定的であった。入手できた臨床検体から、NIID-MDCK 細胞を用いて 5 株の A/H3N2 を分離し、抗原解析、遺伝子解析を行った(8th trial)。抗原解析は、当該シーズンの WHO 推奨基準株 A/Cambodia/e0862360/2020 に対するフェレット抗血清を用いて、NIID-MDCK 細胞および SIAT 細胞で中和試験を行った。いずれも、当該シーズンの WHO 基準株と抗原性は類似することを確認した。この元株 5 株を希望するメーカーに分与し、メーカー細胞でのウイルス増殖、リアソータントの作製、抗原性解析、遺伝子解析が進められた。その結果、馴化株 5 株(野生株)、リアソータント株 5 株が作製され、抗原解析のため感染研に送付された。これに対し、基準株 A/Cambodia/e0862360/2020 に対するフェレット抗血清を用いて、抗原解析を行った結果、9 株は基準株と同等の抗体価を示すことが確認された。そこで、メーカーが開発した 10 株のうち 3 株に対するフェレット抗血清を用いて、基準株に対する抗体価の測定を行い、ワクチン株としての妥当性を検討する。一方、2019/20 シーズンワクチン株作製用として準備した 2 株の A/H1N1pdm09 のうち、1 株は基準株に対するフェレット抗血清による抗原解析の結果、WHO 推奨基準株と同等の抗体価を示すことが確認された。この元株を希望するメーカーに分与し、メーカー細胞で開発された馴化株の抗原性解析を行った結果、基準株と同等の抗原性を示した。次に馴化株に対するフェレット抗血清を用いて、基準株に対する抗体価の測定を行い、ワクチン株としての妥当性を検討している。[信澤枝里、高橋仁、中内美名、長谷川秀樹、ワクチン製造所(第一三共バイオテック、BIKEN)]

5. 抗原性を維持した細胞培養ワクチン株の作製検討

細胞の α 2,3 結合したシアル酸を種々の方法で特異的に阻害した状態で、ワクチン株作製のためのウイルス感染を行い、遺伝的安定性が保たれ抗原性維持が可能か検討を行った。NIID-MDCK 細胞には α 2,3 結合および α 2,6 結合

シアル酸が発現し、 α 2,3 シアル酸に結合するレクチン (MAM, MAL-II)は濃度依存的に細胞表面に結合することを確認した。また、MAL-II レクチン添加細胞でウイルス感染による力価が確認され、HA のアミノ酸変異が抑えられることが示唆された。[高橋仁、藤崎誠一郎、三浦秀佳、永田志保、浜本いつき、中内美名、信澤枝里、長谷川秀樹]

6. 細胞培養インフルエンザワクチンにおける、ウイルス株の増殖効率や抗原性変異に係る細胞因子の同定

迅速で十分な量のワクチン供給を可能とするため、ウイルス株にかかわらず増殖性が高くまた抗原変異率の低い、細胞培養ワクチン製造に適した細胞株を得ることを目的として、BioID 法を用いて、インフルエンザウイルスの増殖効率または抗原性変異に係る細胞因子の同定を試みた。A 型インフルエンザウイルスの NS タンパク質と、活性を高める変異を導入したビオチンリガーゼである AirID との融合蛋白質を細胞内で発現させるプラスミドを作製、培養細胞内へ導入し、融合タンパク質の安定発現 293 細胞株を作製した。得られた細胞株を用いて融合タンパク質の発現誘導を行い、細胞溶解液からストレプトアビジンビーズを用いてビオチン化された細胞因子を精製し、液体クロマトグラフ質量分析 (LC-MS/MS) を行い、ビオチン化された細胞因子を同定した。今回同定された細胞因子のうち、8 因子について解析を進めた。A549 細胞において RNAi を用いて各細胞因子の遺伝子をノックダウンし、A/H1pdm 亜型のインフルエンザウイルスを感染させ、各因子のウイルス増殖への影響を検討した。結果、8 因子中 5 因子をノックダウンした A549 細胞において、陰性コントロール RNAi を導入した細胞と比較して、有意にウイルスの増殖が減少した。このことから、これら 5 因子は NS タンパク質を介して、インフルエンザウイルスの増殖に関わっていると考えられた。[中内美名:井野洋子、木村弥生、梁明秀(横浜市立大学・先端医学科学研究センター)、高橋仁、信澤枝里、長谷川秀樹]

7. 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 抗原量測定法確立のために、ワクチン製造株を用いた一元放射免疫拡散(SRD)試薬および試作ワクチンの作製および評価、モノクローナル抗体(mAb)を用いた SRD 試験法の検討を行った。細胞培養ワクチン株を用いて SRD 試薬(一次標準品、標準抗原、ヒツジ抗血清)

とワクチンを作製し、ワクチンの HA 抗原量測定が適確に行えることを確認した。また、ヒツジ抗血清について、他の製造所作製ワクチンの HA 抗原量測定にも概ね共有使用できることを確認した。A/H1N1 の HA に対する複数の mAb を SRD 試験に使用し、その有用性を検討した。これらの mAb を単独ではなく複数組み合わせることで混合し、H1N1pdm ワクチンの HA 抗原量測定を行ったところ、ヒツジ抗血清使用時と同等の HA 抗原量を示すことができた。[高橋仁、中内美名、信澤枝里、長谷川秀樹、ワクチン製造所(第一三共バイオテック、BIKEN、武田薬品工業、KM バイオロジクス)]

8. 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。これまでに、インフルエンザに感染したマウスの鼻腔洗浄液を用いた plaque reduction 法を検討した。その結果、高い抗体応答が誘導されている鼻腔洗浄液であれば、鼻腔洗浄液を濃縮せずにプラークの減少能が認められることが明らかとなった。同様に、感染フェレットの鼻腔洗浄液を用いた場合にも、プラークの減少能が認められた。現在本動物モデルで構築した解析系がヒトへ応用可能かどうかを検討するため、感染から回復したヒトから回収した鼻腔洗浄液を用いた特異的プラーク減少についての検討を行なっている。[浅沼秀樹、大堀純一郎(鹿児島大学・医)、藤橋浩太郎(東大・医科研)、長谷川秀樹]

レファレンス業務

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 ビクトリア系統、B 山形系統のレファレ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、約 60 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。[岸田典子、中村一哉、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹]

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(細胞株)、B 山形系統(細胞株)、B ビクトリア系統(細胞株)のレファレ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(韓国、台湾、ネパール、モンゴル、ラオス)に配布した。各国で分離されたウイルスあるいは検体の提供を受け、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、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹]

3. 地方衛生研究所におけるウイルス分離培養および亜型同定技術実態調査

インフルエンザウイルス株サーベイランスの質的・量的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亜型同定技術の精度維持は肝要である。全国地方衛生研究所における当該技術の状況を把握することを目的に、本年度は北海道・東北・新潟および近畿地区の地方衛生研究所を主として 23 箇所を対象に、ウイルス分離培養および亜型同定技術の実態調査を実施した。調査参加地方衛生研究所に、ウイルス分離試用試料として A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B ビクトリア系統、B 山形系統および陰性検体を含む 5 サンプルを配布し、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・亜型同定を行ってもらった。分離成否や分離ウイルスの亜型同定試験結果について回答を集めるとともに、アンケートを通じて各地方衛生研究所での具体的手法の確認や作業に関する疑問点の収集に努めた。調査参加地衛研各所で当該技術は概ね良好に維持されており、野外株分離収集業務に十分能うものと考えられた。分離および同定結果に疑義が認められた場合には、適宜担当者との相談を行い、改善策の提示を行うことで、各所での野外株分離技術向上に寄与した。[岸田典子、中村一哉、菅原裕美、秋元未来、佐藤彩、高山郁代、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹、全国地方衛生研究所]

4. SARS-CoV-2 の国際機関への寄託

国立感染症研究所において臨床検体より分離された SARS-CoV-2 について、獣医科学部、ウイルス第一部、感染病理部と連携し、英国 NIBSC に寄託した。令和 3 年度は、アルファ株とデルタ株の組換え体ならびにデルタ株の計 2 株を寄託した。[高山郁代、富田有里子、松山州徳、長谷川秀樹]

サーベイランス業務

1. インフルエンザウイルス国内流行株の抗原性解析

全国の医療機関、保健所および地衛研の協力のもとに、2021 年 4 月から 2022 年 3 月までに報告された A(H3N2):4 株について、抗原性解析を行った。A(H1N1)pdm09、B ビクトリア系統および B 山形系統について収集できた株はなかった。B 山形系統については世界的にも分離株の報告は無かった。A(H3N2)分離株について、2021/22 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 Cambodia/E0826380/20(2a.1 遺伝子グループ)に対するフェレット感染血清に対して、2a.1 に属する 2 株と 2a.2 の 53G を持つグループに属する 1 株は比較的良好に反応したが、2a.2 の 53N を持つグループに属する 1 株は反応しなかった。[岸田典子、中村一哉、秋元未来、佐藤彩、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、森田博子、永田志保、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所]

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

アジア近隣諸国 WHO ナショナルインフルエンザセンターから 2021 年 4 月から 2022 年 3 月の間に提供を受けた 58 株(ネパール 34 株、ミャンマー 13 株、ラオス 11 株)について、抗原性解析を行なった。A(H1N1)pdm09 と B 山形系統は分離株が無かった。A(H3N2)分離株は、ラオス分離株のうち、2021 年 4 月の分離株(2a 遺伝子グループ)は 2021/22 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 Cambodia/E0826380/20(2a.1 遺伝子グループ)に対するフェレット感染血清とよく反応したが、2021 年 8 月以降の分離株(2a.2 遺伝子グループ)はいずれも反応性が低かった。ネパール分離株(2a.2 遺伝子グループ)にはいずれもワクチン推奨株に対するフェレット血清との反応性が低かった。一方で、

ワクチン推奨株のフェレット感染血清に対して反応性の低かったネパール及びラオス分離株はいずれも、2a.2 グループの株のフェレット感染血清との反応性が高かった。B ビクトリア系統のネパールとミャンマー分離株(1A.3a.2 遺伝子グループ)は、2021/22シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 Washington/02/19(1A.3 遺伝子グループ)に対するフェレット感染血清と反応性が低い傾向にあった。それに対して、1A.3a.2 遺伝子グループに属する株のフェレット感染血清とはよく反応した。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システムにおける当該諸国と感染研の連携強化や WHO インフルエンザワクチン株選定会議での議論に際して活用された。[岸田典子、中村一哉、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、森田博子、永田志保、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹]

3. 2020/2021 および 2021/22 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。全国の医療機関、保健所および地衛研の協力のもとに、A(H1N1)pdm09 亜型 1 株、A(H3N2)亜型 2 株について全セグメントシーケンセスを実施し、HA、NA 遺伝子については系統樹解析を行った。世界で検出された A(H1N1)pdm09 亜型流行株は、サブクレード 6B.1A(S74R, I295V, S164T)内に分岐した 6B.1A.5a 群、6B.1A.5b 群および 6B.1A.7 群に属した。6B.1A.5a 群に属するウイルスが主流であり、その中で 187A 変異を持つグループ 6B.1A.5a.1 と 156K 変異を持つグループ 6B.1A.5a.2 に分かれた。解析した国内株 1 株は 6B.1A.5a.1 に属した。最近の A(H3N2)亜型ウイルスは、クレード 3C.2a 中の 3C.2a1 群から分岐した 3C.2a1b 群で、135K 変異を持つグループ(3C.2a1b.1a と 3C.2a1b.1b) および 131K 変異を持つグループ(3C.2a1b.2a と 3C.2a1b.2b) に分岐している。さらに 3C.2a1b.2a グループは、186S+198P 変異を持つ 3C.2a1b.2a.1 群と 159N+160I+164Q+186D+190N 変異を持つ 3C.2a1b.2a.2 群に分かれている。3C.2a1b.2a.2 群では 156S を持つグループが主流となり、さらに 53G あるいは 53N を持つグループに分岐した。2021/22 シーズンに解析した株は、国内株 2 株は

3C.2a1b.2a.2 群の 156S+53N および 156S+53G グループにそれぞれ属した。B 型ビクトリア系統は、HA に欠損をもたない群(従来の V1A)、HA に 2 アミノ酸欠損をもつ群(成熟型 HA の 162 および 163 番目のアミノ酸欠損)(V1A.1)、そして 3 アミノ酸欠損をもつ群(162~164 番目のアミノ酸欠損)(クレード V1A.2 および V1A.3)に派生している。世界で検出された株は全て V1A.3 クレードに属した。国内からは報告例がなかった。B 型山形系統については全世界から報告例がなかった。解析した株についてはデータベース充実化のために、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、三浦秀佳、岸田典子、中村一哉、高下恵美、桑原朋子、森田博子、永田志保、佐藤彩、秋元未来、渡邊真治、小田切孝人、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所]

4. 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。令和 3 年度には、ノイラミニダーゼ(NA)阻害薬(オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビル)、M2 阻害薬アマンタジン、RNA ポリメラーゼ阻害薬バロキサピルの 6 薬剤を対象として、国内外の A(H1N1)pdm09 および A(H3N2)分離株の薬剤感受性を解析した。その結果、NA 阻害薬ならびにバロキサピルに対する耐性株は検出されなかった。一方、アマンタジン耐性株の検出率は A(H1N1)pdm09 と A(H3N2)で共に 100% であった。日本国内の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随時一般公開し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。[高下恵美、永田志保、森田博子、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、中村一哉、岸田典子、佐藤彩、秋元未来、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所]

5. 2021/22 シーズンに国内において家禽及び野鳥から分離された H5N1 及び H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析及び抗原性解析

2021/22 シーズンは、昨シーズンと同様、国内各地において、家禽、野鳥及び環境中からの H5N1 及び H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出報告があった。これら報告があった中から分離株 3 株 A/chicken/Akita/7C/2021 (H5N8)、A/chicken/Kagoshima/21A6T/2021 (H5N1) 及び A/hooded crane/Kagoshima/KU-5T/2021 (H5N8)を受け入れ、遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。遺伝子解析の結果、受入株の HA 遺伝子は、すべて H5 HA クレード 2.3.4.4 b に属し、2020/21 シーズンに欧州において分離された株と類似していた。抗原性解析のため、同クレードのワクチン製造候補株である IDCDC-RG71A (A/Astrakhan/3212/2020) 株に対するフェレット抗血清を用いて HI 試験を実施した。その結果、IDCDC-RG71A に対するフェレット抗血清は、A/chicken/Akita/7C/2021 株 及び A/hooded crane/Kagoshima/KU-5T/2021 株 に 反 応 し た が、A/chicken/Kagoshima/21A6T/2021 株には、あまり反応しなかった。これらの解析結果は、WHO インフルエンザワクチン株選定会議において資料として活用された。

[有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、内田裕子(動物衛生研究所)、小澤真(鹿児島大学)、渡邊真治、長谷川秀樹]

6. 新興・再興感染症データベース(REBIND)事業における SARS-CoV-2 ゲノム解析

新興・再興感染症に対して、病態解明の研究等を進めるための基盤として国立感染症研究所と国立国際医療研究センターが連携してナショナル・レポジトリが構築された。令和 3 年度の対象疾患は新型コロナウイルス感染症(COVID-19)である。当センターでは、分離されたウイルスのゲノム解析を担当し、163 ウイルスのゲノム配列を決定し、その情報をデータベースに登録した。[宮崎かや、土井昭宏、高山郁代、松山州徳、渡邊真治、長谷川秀樹]

7. 患者由来 SARS-CoV-2 分離ウイルスのゲノム解析

空港検疫から提供される新型コロナウイルスの検体について、国立感染症研究所ではウイルス分離をおこなっている。当センターではその一端を担うべく、分離されたウイルスのゲノム解析を担当し、ゲノム配列を決定した。[宮崎かや、土井昭宏、三浦秀佳、高山郁代、藤崎誠一郎、松山州徳、渡邊真治、長谷川秀樹]

8. インフルエンザ様疾患のサーベイランス

膨大な種類の呼吸器系ウイルスは、感染者にインフルエンザウイルスと同様の呼吸器症状を引き起こす。新型コロナウイルスのみならず、RS ウイルス、ライノウイルス、パラインフルエンザウイルス、エンテロウイルス等の重症肺炎を引き起こす病原体について、実際にどの病原体がどのような割合でヒトに感染しているのかを明らかにすることは、感染症対策を講じる上で必要不可欠な知見となる。我々は国立病院機構三重病院と三重県保健環境研究所に協力頂き、インフルエンザ様疾患を示した患者検体の収集と解析を進めている。2021 年度は計 329 検体を受領し、そのうち 29 検体について multiplex PCR 法により病原体を特定した。[富田有里子、大倉日和、高山郁代、松山州徳、渡邊真治、長谷川秀樹]

9. 季節性インフルエンザウイルスの鶏卵分離

現行の季節性インフルエンザワクチン製造株は、臨床検体から発育鶏卵を用いて分離されたウイルスから開発されている。しかし、最近の季節性インフルエンザウイルス(特に A/H3N2)は鶏卵での分離効率が低下している。そこで、鶏卵で分離され、かつ、抗原性は市中流行株に近いウイルスの分離を試み、季節性ワクチン製造株の開発に資することを目的とした。そのため、国内の医療機関から提供された臨床検体を発育鶏卵に接種し、ウイルス分離を試みた。その結果、A(H3N2):4 株の分離に成功した。[鈴木康司、有田知子、浜本いつき、渡辺佳世、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

ワクチンの安定供給に関する業務

1. 2022/23 シーズン用鶏卵培養季節性インフルエンザワクチン製造株候補の準備

2022/23 シーズン用ワクチン製造株の選定にあたり、下記製造株候補の輸入および SPF 卵を用いての増殖を行なった。

A(H3N2):

- A/Darwin/6/2021 (IVR-227)
- A/Darwin/9/2021 (IVR-228)
- A/Darwin/9/2021 (NIB-126)
- A/Darwin/6/2021 (NIB-127)
- A/Darwin/9/2021 (SAN-010)

- A/Darwin/6/2021 (NYMC X-367A)
- A/Darwin/9/2021 (NYMC X-369A)

B 型ビクトリア系統:

- B/Fujian-Zhangpu/34/2021
- B/Henan-Xigong/1118/2021
- B/Austria/1359417/2021 (BVR-26)
- B/Singapore/WUH4618/2021
- B/Austria/1359417/2021
- B/Michigan/01/2021

当センターで A(H3N2)の 5 株と B 型ビクトリア系統の 5 株については増殖性、蛋白収量の検討を行った。ワクチン製造所で増殖性、蛋白収量等の検討を行うため、A(H3N2)の 7 株と B 型ビクトリア系統の 4 株を分与した。分与した株については遺伝子解析、抗原性解析、無菌試験を実施した。B 型ビクトリア系統候補株において、鶏卵での継代による HA 変異 (G141R)により、変異後の株に対するフェレット抗血清の反応性に変化が見られることを確認した。WHO インフルエンザワクチン株選定会議においても他機関より同様の報告がされている。

ワクチン製造所における増殖性や蛋白収量等の情報は、2022/23 シーズンワクチン株検討会議に供され、ワクチン製造株検討資料として共有された。[有田知子、鈴木康司、渡辺佳世、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

品質管理に関する業務

国際協力関係業務

1. 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 GISRS 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、10 月に Web で開催された 10th Meeting of the WHO Expert Working Group on Surveillance of Influenza Antiviral Susceptibility (AVWG) for the GISRS に参加し、抗インフルエンザ薬耐性株のサーベイランス強化に関する議論を行った。[高下恵美]

2. WHO FluNet へのインフルエンザウイルス国内流行状況に関する情報提供

WHO によるインフルエンザウイルスサーベイランスのため

のグローバルデータベース FluNet に、国内のインフルエンザウイルス流行状況について情報提供するため、毎週、WHO FluMart プラットフォームにインフルエンザを含む呼吸器ウイルスの国内検出数をアップロードした。[高下恵美]

3. WHO 世界インフルエンザ監視対応システムにおける流行株の 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(H3N2)と B ビクトリア系統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。[岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、永田志保、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹]

4. ワクチン株選定のためのウイルス進化・適応予測分析への協力

ウイルス進化・適応予測分析を行うため、2 つの予測モデリング・グループ (Fred Hutchinson Cancer Research Center & University of Basel team および Institute for Advanced Study, University of Glasgow & University of Cologne team)へ A(H3N2)と B ビクトリア系統ウイルスの抗原解析データおよび遺伝子解析データを提供した。得られた成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定の参考資料とされた。[岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、永田志保、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹]

5. モンゴル国 National Center for Communicable Diseases に対する NGS を使用した SARS-CoV-2 ゲノムシーケンスの技術研修

モンゴル国 NCCD からの 3 名の研修生に対し、iSeq100 を用いた SARS-CoV-2 のゲノムシーケンス法、および解析データの活用方法について指導を行った。[藤崎誠一郎、三浦秀佳、高橋仁、中内美名、高山郁代、岸田典子]

6. モンゴル国 COVID-19 患者検体のゲノムシーケンス

モンゴル国にて採取された COVID-19 患者検体についてゲノムシーケンスを実施し PANGO 系統の判定、特徴となるアミノ酸の解析を行った。[藤崎誠一郎、三浦秀佳、永田志保、森田博子]

7. 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 ジュネーブ本部主催によるインフルエンザワクチン株選定会議 (web 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。[渡邊真治、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

研修業務

1. 令和 3 年度国立保健医療科学院ウイルス研修における細胞培養、季節性インフルエンザウイルスの培養および赤血球凝集抑制試験の技術研修

令和 3 年 11 月 2 日-9 日に当該研修参加の地衛研職員を対象に、細胞培養、季節性インフルエンザウイルス培養及び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、秋元未来、渡邊真治]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1. [Takashita E](#), Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Shimizu K, Ozawa H, Kumazaki M, Usuku S, Tanaka N, Okubo I, [Morita H](#), [Nagata S](#), [Watanabe S](#), [Hasegawa H](#), Kawaoka Y. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic. *Influenza Other Respir Viruses*. 2021 Jul;15(4):488-494.

2. Sato M, [Takashita E](#), Katayose M, Nemoto K, Sakai N, [Fujisaki S](#), Hashimoto K, Hosoya M. Detection of variants with reduced baloxavir marboxil and oseltamivir susceptibility in children with influenza A during the 2019-2020 influenza season. *J Infect Dis*. 2021 Apr 10;jiab196.

3. Ison MG, Hayden FG, Hay AJ, Gubareva LV, Govorkova EA, [Takashita E](#), McKimm-Breschkin JL. Influenza polymerase inhibitor resistance: Assessment of the current state of the art - A report of the isirv Antiviral group. *Antiviral Res*. 2021 Oct;194:105158.

4. [Takashita E](#), [Morita H](#), [Nagata S](#), [Shirakura M](#), [Fujisaki S](#), [Miura H](#), [Takayama I](#), [Arita T](#), [Suzuki Y](#), Yamaoka M, Tanikawa T, Tsunekuni R, Mine J, Sakuma S, Uchida Y, Shibata A, Iwanaka M, [Kishida N](#), [Nakamura K](#), [Kageyama T](#), [Watanabe S](#), [Hasegawa H](#). Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Antiviral susceptibilities of avian influenza A(H5), A(H7), and A(H9) viruses isolated in Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2021 Dec 28.

5. [Takashita E](#), Kinoshita N, Yamayoshi S, Sakai-Tagawa Y, [Fujisaki S](#), Ito M, Iwatsuki-Horimoto K, Chiba S, Halfmann P, Nagai H, Saito M, Adachi E, Sullivan D, Pekosz A, [Watanabe S](#), Maeda K, Imai M, Yotsuyanagi H, Mitsuya H, Ohmagari N, Takeda M, [Hasegawa H](#), Kawaoka Y. Efficacy of Antibodies and Antiviral Drugs against Covid-19 Omicron Variant. *N Engl J Med*. 2022 Mar 10;386(10):995-998.

6. Truong PT, Saito S, [Takayama I](#), Furuya H, Nguyen BG, Do TV, Phan PT, Do CD, Dao CX, Pham TT, Dang TQ, Ngo CQ, Le NT, Bui VM, Le DT, Vu VTT, Pham TTP, Arashiro T, Kageyama T, Nakajima N. Respiratory microbes detected in hospitalized adults with acute respiratory infections: associations between influenza A(H1N1)pdm09 virus and intensive care unit admission or fatal outcome in Vietnam (2015-2017) *BMC Infect Dis*. 2021 Apr 6;21(1):320.

7. [Tomita Y](#), [Matsuyama S](#), Fukuhara H, Maenaka K, Kataoka H, Hashiguchi T, Takeda M. The physiological TMPRSS2 inhibitor HAI-2 alleviates SARS-CoV-2 infection. *J Virol*. 2021. doi:10.1128/JVI.00434-21

8. Shirato K, [Tomita Y](#), Katoh H, Yamada S, Fukushi S, [Matsuyama S](#), Takeda M. Performance evaluation of real-time RT-PCR assays for detection of severe acute respiratory

syndrome coronavirus-2 developed by the National Institute of Infectious Diseases, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2021. doi:10.7883/yoken.JJID.2020.1079

9. Kotani O, Suzuki Y, Saito S, Aina A, Ueno A, Hemmi T, Sano K, Tabata K, Yokoyama M, Suzuki T, Hasegawa H, Sato H. Structure-Guided Creation of an Anti-HA Stalk Antibody F11 Derivative That Neutralizes Both F11-Sensitive and -Resistant Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses. *Viruses.* 2021 Aug 31;13(9):1733.

10. Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhashi K, Mizukami T, Hamaguchi I. Nasal alum-adsorbed vaccine promotes IL-33 release from alveolar epithelial cells that elicits IgA production via type 2 immune responses. *PLoS Pathog.* 2021 Aug 30;17(8):e1009890.

11. Hamamoto I, Shimasaki N. The importance of monitoring viral respiratory infections during the COVID-19 crisis. *Journal of Disaster Research.* Vol.17 No.1, 2022.

2. 和文発表

1. 高下恵美 ウイルスの薬剤耐性メカニズム. 創薬研究者がこれだけは知っておきたい最新のウイルス学、技術情報協会、125-131, 2021.

2. 高下恵美 バロキサピルの耐性一基礎から. *インフルエンザ/新型コロナウイルス感染症 診療ガイド 2021-22*, 日本医事新報社、162-164, 2021.

3. 高下恵美 7th ESWI Influenza Conference 参加報告. *インフルエンザ[その他の呼吸器感染症]*, 22:140-141, 2021.

4. 高下恵美 なぜインフルエンザの流行は止まったのかインフルエンザ[その他の呼吸器感染症], 22:243-248, 2021.

5. 岸田典子, 中村一哉, 藤崎誠一郎, 高下恵美, 佐藤彩, 秋元未来, 三浦秀佳, 森田博子, 永田志保, 白倉雅之, 菅原裕美, 渡邊真治, 長谷川秀樹, インフルエンザ株サーベイランスグループ. 2020/21 シーズンのインフルエンザ分離株

の解析. *病原微生物検出情報*, 42:247-252, 2021.

II. 学会発表

1. 国際学会

1. Takashita E, Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Shimizu K, Ozawa H, Kumazaki M, Usuku S, Tanaka N, Okubo I, Morita H, Nagata S, Watanabe S, Hasegawa H, Kawaoka Y. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic. ISIRV-WHO Virtual Conference: COVID-19, Influenza and RSV: Surveillance-Informed Prevention and Treatment. Web, October 2021

2. Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Sano K, Aina A, Shiwa N, Shirakura M, Kishida N, Arita T, Suzuki Y, Harada T, Kawai Y, Ami Y, Iida S, Katano H, Hashiguchi T, Fujisaki S, Sekizuka T, Shimizu H, Suzuki T, Hasegawa H. Persistent intestinal infection with SARS-CoV-2 in a cynomolgus monkey after experimental infection. 15th International Nidovirus Symposium (NIDO2021) (Online). 2021.6.7-6.8

2. 国内学会

1. 高下恵美, 川上千春, 百木智子, 七種美和子, 清水耕平, 小澤広規, 熊崎真琴, 宇宿秀三, 田中伸子, 大久保一郎, 森田博子, 永田志保, 渡邊真治, 長谷川秀樹, 河岡義裕. 新型コロナウイルス感染症流行下における小児のライノウイルス感染リスクの上昇. 第 34 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム, Web, 2021 年 7 月

2. 川上千春, 百木智子, 七種美和子, 清水耕平, 小澤広規, 宇宿秀三, 田中伸子, 大久保一郎, 高下恵美, 藤崎誠一郎, 中村一哉, 岸田典子, 渡邊真治, 長谷川秀樹. 2017/18 シーズンから 2019/20 シーズンに流行した AH1pdm09 インフルエンザウイルスの解析. 第 34 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム, Web, 2021 年 7 月

3. 長谷川秀樹. 新型コロナウイルスワクチンについて. 日本神経感染症学会 WEB セミナー「新型コロナウイルス感染症とは? 知っておきたい基礎知識:疫学、臨床、治療と予防」、国内・配信、2021 年 3 月 31 日-2021 年 8 月 31 日

4. 長谷川秀樹. 新型コロナウイルスワクチンの開発. 第 17 回加齢皮膚医学研究会、名古屋・Web、2021 年 8 月 評価. 第 68 回日本ウイルス学会、神戸・Web、2021 年 11 月
5. 高下恵美、川上千春、百木智子、七種美和子、清水耕平、小澤広規、熊崎真琴、宇宿秀三、田中伸子、大久保一郎、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹、河岡義裕. 新型コロナウイルス感染症流行下における小児のライノウイルス感染リスクの上昇. 第 53 回日本小児感染症学会、東京・Web、2021 年 10 月
6. 高下恵美、川上千春、百木智子、七種美和子、清水耕平、小澤広規、熊崎真琴、宇宿秀三、田中伸子、大久保一郎、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹、河岡義裕. 新型コロナウイルス感染症流行下における小児のライノウイルス感染リスクの上昇. 第 68 回日本ウイルス学会、神戸・Web、2021 年 11 月
7. Watanabe S, Nakamura K, Kishida N, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Sato A, Akimoto M, Miura H, Morita H, Sugawara H, Hasegawa H. The influenza surveillance group of Japan. Characterizations of circulating influenza viruses in the 2020/21 season and selection of vaccine viruses for the 2021/22 season. 第 68 回日本ウイルス学会、神戸・Web、2021 年 11 月
8. 浜本いつき、長谷川秀樹、浅沼秀樹:インフルエンザウイルスとの in vitro 共培養によるヒトインフルエンザウイルス 3 型の増殖抑制作用、第 68 回日本ウイルス学会、神戸・Web、2021 年 11 月
9. 朴ウンシル、黒田雄大、宇田晶彦、加来義浩、立本完吾、石嶋慧多、網康至、白倉雅之、鈴木康司、原田俊彦、浅沼秀樹、志和希、岩田奈織子、永田典代、長谷川秀樹、前田健. SARS-CoV-2 感染に対するネコの感受性の検証. 第 164 回日本獣医学会、2021 年 9 月
10. 朴ウンシル、黒田雄大、宇田晶彦、加来義浩、奥谷晶子、立本完吾、石嶋慧多、網康至、白倉雅之、鈴木康司、原田俊彦、相内章、志和希、岩田奈織子、永田典代、鈴木忠樹、長谷川秀樹、前田健. SARS-CoV-2 感染源としてネコのリスク