

## 3. ウイルス第三部

### 部長 田代 真人

#### 概要

当部は村山庁舎に配置され、第1室(インフルエンザ)、第2室(風疹)、第3室(麻疹)、第4室(ムンプス)、第5室(インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン)で構成される。業務は、ワクチン製剤の品質管理及び関連する研究、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファレンス業務及び国際協力である。

人事異動では、平成17年4月1日付けで影山努(第1室)、白戸憲也(第5室)の各研究員が採用され、西藤岳彦主任研究官(第1室)が(独行法)農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所へ出向となった。同年5月1日付けで染谷健二(第3室)研究員が採用された。一方、平成18年1月31日付けで加藤宏幸(第2室)主任研究官が退職し、同年3月31日付けで海野幸子第2室長が定年退職、宮嶋直子主任研究官(第5室)が退職した。

当部は、インフルエンザ、風疹、麻しん、おたふくかぜの各ワクチン、 $\gamma$ -グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務、インターフェロン製剤については収去検査を担当し、生物学的製剤GMP査察にも協力している。品質管理体制に関しては、科学の進歩に応じて生物学的製剤基準の改定を行った。またGMPを中心とする新たな品質管理体制と国際的に通用する近代的な品質管理への転換を図るため、必要な改善を行った。新3号棟に検定・検査用の専用実験室を確保し、また作業手順、作業記録、構造設備等については、WHO新基準に準拠した国際的対応可能な体制に改めた。またワクチン製造株のシードロット体制の整備導入を検討した。本年度は、麻疹・風疹混合ワクチンの導入のための特別審査を行った。ワクチン製剤の安全性と有効性の確保とNational Control Laboratoryとしての責任を果たすために、部内外で開かれた検討を行い、限られた施設、人員、予算の中で、実施品目、項目の必要性、優先順位を明確にして、基本方針の意思統一を図っている。

研究活動では、インフルエンザでは、流行動向調査事業等を地衛研と協力して進め、流行ウイルスの抗原・遺伝子解析と流行予測を行い、ワクチン製造株を選定した。また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

布した。更にH5N1型高病原性鳥インフルエンザの流行に対応して、新型インフルエンザ対策準備対応計画の策定および新型候補ワクチン、診断方法の緊急開発を行った。麻疹および風疹では、WHOの世界麻疹特別研究室、西太平洋地域レファレンス研究室に指定され、拡大予防接種計画に応じて、地衛研等及び諸外国、WHOと連携して分離ウイルスの遺伝子型同定と分子疫学解析を行った。ムンプス髄膜炎モデルとしてマーマセツト、ラットへの脳内接種方法を確立し、ワクチンの安全性評価を進めた。SARSウイルスの細胞侵入機構を解明し、抗ウイルス剤の開発等への道を開いた。またヒトコロナウイルスと川崎病との関連性を検討した。センダイウイルスについてリパース・ジェネティクスを用いた研究を進め、P/V/C蛋白の病原性発現への意義付けと、様々なウイルス分離用のインターフェロン抵抗性細胞株の開発を進めた。

国際協力では、WHOインフルエンザ協力センターとして世界各国から送付された分離ウイルスの解析及び候補ワクチンの効果予測を行い、WHOインフルエンザワクチン推奨株を決定した。H5N1型の流行に対しては、WHO-H5N1レファレンス研究室にも指定され、世界各地のウイルス診断、分離と解析、各地への技術支援、研修、診断方法の改良を行った。またWHO世界インフルエンザ計画に参画してWHOおよび我が国の大流行準備対応計画の策定と実施を推進した。

#### 業績

##### 調査・研究

###### 1. インフルエンザウイルスに関する研究

1. 高病原性鳥インフルエンザウイルスの流行における実験室診断と国際協力

2003年から東アジアの家禽や野鳥で始まったA/H5N1型高病原性鳥インフルエンザの大流行は、中近東、欧州、アフリカへと波及した。東アジア、中近東ではヒトへも感染し100名以上の死者を出すまでに至り、これに起因した新型インフルエンザウイルスの出現とそれによる世界的な汎流行が危惧されている。当室は、WHO-H5N1レファレンス診断ラボに指定されていることから、ベトナム、ラオスな

どの東南アジア諸国から H5 ウイルス感染が疑われる患者の検体を受け入れ、培養細胞を使ったウイルス分離、RT-PCR 法および RT-LAMP 法によるウイルス遺伝子検出などの病原学的診断を行った。これら診断結果は検体送付国と WHO に逐一報告され、当該国での新型インフルエンザ対策に役立てられた。一方、臨床検体から分離された高病原性鳥インフルエンザウイルスについては、詳細な抗原解析と遺伝子解析が行われた。また、WHO-H5 ネットワークから随時海外分離株を入手し、同様に解析を行った。これら解析情報は随時 WHO-H5 ネットワーク間で交換され、プロトタイプワクチン株の選定や抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスの資料として活用された。[今井正樹、二宮愛、影山努、望月菊、板村繁之、河野直子、小淵正次、斉藤利憲、福家優、小田切孝人、田代真人]

### 2. 新型インフルエンザ迅速診断キットの開発

高病原性鳥インフルエンザウイルス A/H5N1 の赤血球凝集素(HA)を標的とした迅速診断キット(イムノクロマト法)試作品について、様々なインフルエンザウイルス A/H5N1 流行株を用いて、その検出感度および特異性について検討を行った。その結果、最近ヨーロッパ周辺に拡大している株と同系統のトルコ株、ベトナムに拡大しているベトナム株、鶏から分離された中国株および山口株に対しては、現在市販されているヒトインフルエンザ流行株(A/H1 型、A/H3 型および B 型)に対する迅速診断キットとほぼ同等の検出感度を有していた。しかし、現在インドネシアで流行しているインドネシア株や 2003 年に分離された香港株に対しては検出感度が低く、全ての H5 亜型鳥インフルエンザウイルス流行株を高感度かつ特異的に検出するためには、キットに用いる抗体を含めさらなる改良が必要であることが示された。[影山努、今井正樹、田代真人、小田切孝人]

### 3. 新型インフルエンザ遺伝子診断法の開発

高病原性鳥インフルエンザウイルス A/H5N1 は、1997 年に香港で流行して以来、中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へと現在は流行地域が拡大している。この間にも、A/H5N1 流行株は抗原的にも遺伝的にも異なる数グループに分岐し、従来のプライマーを用いた遺伝子診断法では検出できない株も出現してきた。そこで、様々なインフルエンザウイルス A/H5N1 流行株に対し、新たに幅広く高感度に検出できるプライマーの設計および検査法の開発を行った。RT-PCR 法では、現在、我々が感染研 HP に掲載している RT-PCR 検査法(第 2 版)を大幅に改訂し、2004 年のベトナム株、2005~2006 年にかけて流行したインド

ネシア株、トルコ株など遺伝的に異なるグループに入る株でも高感度に検出できる検査系の構築に成功した。また、RT-PCR と同じプライマーを採用した SYBR Green I 法を用いた Real-time RT-PCR 検出系も同時に構築した。[影山努、今井正樹、二宮愛、望月菊、田代真人、小田切孝人]

### 4. 高病原性鳥インフルエンザウイルスの性状解析

ベトナムのホーチミン市パスツール研究所から感染診断検査依頼を受けた検体から、2 株の A/H5N1 ウイルスが分離された。この分離株の性状解析を行った結果、抗原性は 2004 年のベトナム分離株で WHO が推奨するプロトタイプワクチン株(A/Vietnam/1194/2004)と類似しており、また、遺伝子解析により Z 型に分類される事が明らかになった。このことから、2005 年のベトナムの H5N1 ウイルスの流行株は 2004 年と比べて大きく変わっていない事が示唆された。[影山努、今井正樹、二宮愛、望月菊、田代真人、小田切孝人]

### 5. 新型インフルエンザワクチン株の開発

A/H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスの流行に備えるために、リバースジェネティクス(RG)法を用いてワクチン株を作製し、その安全性を検証した。A/PR/8/34 株の cDNA をバックボーンとする RG 系を用いて、2005 年にベトナム患者から分離された A/Vietnam/JPHN30321/2005 (H5N1) 株とインドネシア患者から分離された A/Indonesia/6/2005 (H5N1) 株を弱毒化した。作製した組換えウイルスの病原性を調べるために、H5 ウイルスの弱毒化の指標であるトリプシン依存性試験を行った。その結果、2つの組換えウイルスはトリプシンが存在する条件下でしか増殖できない弱毒化ウイルスであることが確認された。[今井正樹、二宮愛、影山努、望月菊、小田切孝人、田代真人]

### 6. 新型インフルエンザウイルスに対するワクチンのマウスにおける有効性の検討

2004 年に、ベトナムでヒトから分離された鳥由来の強毒株 A/Vietnam/JP1203/2004 (H5N1)をもとに作製したワクチン株 rgVNJP1203/04 を用いて、ホルマリン不活化全粒子ワクチンを試作した。アルミニウムアジュバントと共にマウスに皮下接種して免疫した後、ワクチンの元株である強毒株 A/Vietnam/JP1203/2004 を感染させ、感染防御効果を調べた。その結果、今回新たに作製したワクチン株 rgVNJP1203/04 は、やや免疫原性が低いものの強毒ウイルスでの攻撃に対する免疫応答を誘導できること、また、アジュバントの使用でより効果的に感染防御能を誘導でき

る可能性が示された。[二宮愛、今井正樹、田代真人、小田切孝人]

#### 7. 新型インフルエンザに対するアジュバント添加ワクチンの開発

新型インフルエンザの発生に備えて免疫原性の高いワクチン開発は緊急の課題であり、昨年度より早期の認可を目指してワクチン製造所と協力してアジュバントを添加した不活化全粒子ワクチンの開発を進めてきた。本年度は、ワクチンの力価測定方法や、臨床試験におけるワクチン効果の評価のための中和抗体や HI 抗体の測定法の標準化を実施した。抗体価測定の標準化に必要なウイルス抗原や陽性対照血清などの作製を行い、方法の標準化について検討した。また、ワクチンの薬効試験として強毒株によるマウスのチャレンジ試験を実施した。本年度はさらに、前臨床試験によってワクチン製剤の安全性が確認されたために、第 1 相臨床試験が実施された。[板村繁之、河野直子、二宮愛、細菌製剤協会、小田切孝人、田代真人]

#### 8. 茨城県、埼玉県におけるトリインフルエンザ(A/H5N2)発生に伴う血清疫学調査

2005 年 6 月を初発として茨城県、埼玉県の養鶏場において弱毒型のトリインフルエンザ A/H5N2 ウイルスの流行が見られた。これに伴うヒトへの感染の有無を確認することを目的として、鶏へのウイルス感染が確認された養鶏場の従業員や防疫従事者総数 399 名の血清中の中和抗体価の測定を実施した。対照群 31 名の血清抗体価を測定した結果、97%が中和抗体価 10 以下であり、40 を超える例がないことから 40 以上を陽性と判断した。この基準に従うと、養鶏場従業員等 365 名中 88 名が、また防疫従事者 34 名中 5 名が陽性と判断された。流行したウイルスが弱毒株であったために養鶏場での感染が明らかになった時期には既に流行してからある程度の期間が経過していたと考えられる例が多かった。そのため採血については基本的に 1 ヶ月程度の間隔で 2 回実施しているが、第 1 回採血時に既に陽性と判断された例が多かった。有意に抗体価の上昇した者は養鶏場従業員等で 23 名、防疫従事者では無かった。防疫従事者については作業開始前に第 1 回採血を実施しているので、少なくとも防疫作業による感染はなかったと考えられる。一方、今回の調査で養鶏場の従業員等で弱毒型のトリインフルエンザ A/H5N2 ウイルスによるヒトへの感染の可能性が示唆された。 [板村繁之、河野直子、中島一敏\*、安井良則\*、茨城県保健福祉部、岡部信彦\*、小田切孝人、田代真人：\*感染症情報センター]

#### 9. 新型インフルエンザワクチン製造株作製用細胞株の開発

人への使用を目的とするワクチン株をリバースジェネティクス (RG) 法で作製するためには、GMP 施設でバンクされ高度に安全性が検証されたワクチン製造用細胞株が必要である。前年度において、我々は American Type Culture Collection より入手した LLC-MK2 細胞がトランスフェクションに対する感受性が高く RG 法に適していることを報告した。本年度は、GMP 製造施設において LLC-MK2 細胞からマスターセルバンク及びワーキングセルバンクを構築し、これらセルバンクについて安全性試験、特性試験を実施した。その結果、本細胞は安全性が高く、人用ワクチン製造用細胞株として使用できることが示された。[今井正樹、城野洋一郎\*、牧角啓一\*、田代真人、小田切孝人：\*化学及血清療法研究所]

#### 10. 新型インフルエンザワクチン株製造のための GMP 施設の建設準備に係わる調査

2007 年度完成予定のワクチン株製造施設の基本設計に必要な情報を収集するために、新型インフルエンザワクチン株製造のための工程、品質管理方法について海外調査報告や文献について調査・検討を実施した。また、ワクチン株の製造に必要な施設、設備についての規格や実験室のレイアウト等について検討を行って、ワクチン株製造施設の基本的な規格、仕様を提示した。[板村繁之、篠原克明\*、網 康至\*\*、今井正樹、二宮愛、小田切孝人、田代真人：\*バイオセーフティ管理室、\*\*動物管理室]

#### 11. 新型インフルエンザ対策行動計画策定への参画

H5N1-高病原性鳥インフルエンザに起因した新型インフルエンザによる世界的大流行(パンデミック)が起こる可能性が高くなったことから、WHO はそれぞれの国における新型インフルエンザ対策行動計画の策定とその実施を勧告している。先進諸外国においては、既に行動計画の策定およびその更新が適宜行われているが、わが国ではまだ策定されていなかった。しかし、世界的に高病原性鳥インフルエンザの流行が拡大するにつれて、わが国政府としても新型インフルエンザ対策に本腰を入れざるを得なくなり、厚労省結核感染症課を事務局とした新型インフルエンザ専門家会議が組織された。本会議では WHO が分類した各パンデミックフェーズをさらに「海外で発生している場合」、「国内でも発生した場合」に細分し、それぞれに応じた行動計画の目次案を策定し、平成 17 年 11 月に地方自治体へ提示した。感染研ウイルス第 3 部第 1 室からは 2 名が専門委員としてその立案、議論に参画した。[小田切孝人、田

代真人]

12. インフルエンザウイルス遺伝子の大量解析に関する NITE との共同研究

インフルエンザウイルスの遺伝子解析は、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。また、ノイラミニダーゼ阻害剤等の抗インフルエンザ薬の使用頻度の増大に伴い、薬剤耐性ウイルスの出現が問題となってきた。このことから、多数の株についての継続的な遺伝子解析、耐性株のモニタリングや耐性マーカーの同定などが重要になってきた。そこで本年度より、大量の遺伝子解析技術と設備、および実績を持っている独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)との共同研究により、インフルエンザウイルス 500 株以上について、HA 遺伝子、NA 遺伝子、M 遺伝子等の遺伝子解析を継続的に行う事とした。本年度は 2004/2005 シーズンに分離された A/H1 型 81 株、A/H3 型 306 株、B 亜型 252 株の NA 遺伝子について解析を行った。その結果、これまでに報告されているようなオセルタミビル耐性に変異した遺伝子を持つウイルス株は見つからなかった。[ 影山努、小淵正次、今井正樹、堀川博司、細山哲、矢代勲、藤田信之、小田切孝人：独立行政法人製品評価技術基盤機構 ]

13. わが国に飛来する野鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査

2003 年末から東アジア諸国の家禽で発生した H5N1-高病原性鳥インフルエンザの流行は、その後、中国、中近東、アフリカ、ヨーロッパへと拡大し、ヒトへの感染例および死亡例も増え続けている。この感染拡大経路は渡り鳥の飛行ルートとよく相関していることから、海外からの感染者の入国に加えて、渡り鳥や野鳥によっても H5N1-高病原性鳥インフルエンザウイルスがわが国に持ち込まれる可能性がある。従って、飛来する渡り鳥・野鳥がもつウイルスの実態調査を行なうネットワークを構築し、H5N1-高病原性鳥インフルエンザウイルスを水際で捉える広域な監視体制を確立することが必要である。そこで、本年度は北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、鳥取大学農学部、動物衛生研究所および感染研ウイルス 3 部第 1 室からなるコア研究チームを組織し、それぞれがもつ共同研究グループを取り込んだ鳥インフルエンザウイルス生態調査ネットワークの構築を行った。また、各メンバー機関が持つ検体採取地の特定、採取時期の検討、および解析手法などを検討し、次年度に向けた準備を行った。[小田切孝人、今井正樹、喜田宏\*、迫田義博\*、伊藤壽啓\*\*、塚本健司\*\*：\*北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、\*\*

鳥取大学農学部、\*\*\*動物衛生研究所]

14. B 型インフルエンザウイルス BM2 蛋白質の機能に関する研究

B 型インフルエンザウイルス第 7 分節 RNA によってコードされている BM2 は、イオンチャンネル活性をもつ膜蛋白質である。我々は前年度において、BM2 はウイルスの感染性粒子への成熟にとって必須な蛋白質であることを報告している。今年度は、BM2 の感染性ウイルス粒子形成に関わる領域を明らかにするために、細胞質領域に変異を導入したウイルスを作製し、その性状を解析した。その結果、BM2 の細胞質領域を C 末端側から 6 アミノ酸を欠損させると、ウイルスの増殖が著しく抑制されることがわかった。また、この領域の欠損は M1 と膜との親和性を低下させ、その結果、M1 と複合体を形成するヌクレオカプシド複合体(vRNP)のウイルス粒子への取り込みが阻害されることがわかった。[今井正樹、二宮愛、小田切孝人]

・ 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹抗体測定のための国内パネル血清の作製と評価 (続)

診断薬の性能を調べるための標準パネル血清を整備するために、感染或いはワクチン接種後長期経過した血清が収集された。B 型肝炎等の感染の有無を検査し、安全性を調べた 88 検体の風疹パネル血清候補の抗体価を HI 法、EIA 法により評価した。3 検体が抗体陰性で、11 検体が HI 抗体陽性だが EIA-IgG 抗体陰性となり、74 検体が両者陽性であった。ワクチン接種群 42 検体の平均 HI 抗体価は  $2^{5.4}$  となり、罹患歴のある 22 検体の  $2^{6.1}$  に比べ低かった。1.2 倍希釈で測定した HI 抗体価と EIA によって得られた国際単位(IU)は、良く相関し、次式で両者の関係を表すことが出来、両抗体価の変換が相互に可能であると考えられた。これらパネル血清は EIA キットの HI との相関性を調べるために有用と思われた。[海野幸子、堀内善信、加藤宏幸、大槻紀之、門澤和恵：細菌第二部]

2. 風疹ウイルス遺伝子診断技術改良の検討

RT-PCR を用いた風疹ウイルス遺伝子の検出法は極めて有用であるが、検体の処理方法、使用する試薬、プライマー等によって感度の差が生じる場合が多い。異なる条件下での検査による検出感度の差が結果の一貫性と臨床応用に課題を残している。試薬、プライマーによる感度差を調べるとともに、4ヶ所の検査施設において同一条件下で試験を実施し、感度の比較を行った。その結果、当研究室を含む 4 施設の全てで 3 倍以内の感度差が得られた。本プロ

トコールを用いて安定した試験を行うことができる可能性が示された。[加藤宏幸、門澤和恵、海野幸子]

### 3. Vero 細胞を用いた風しんワクチンウイルスの無血清培養系の確立（続）

無血清培地 DM201 に馴化させた Vero 細胞に風しんワクチンを接種し、得られたウイルスを同じ条件下で 5 代継代した。1 代から 5 代まで  $10^7$  PFU/ml 以上の高いウイルス収量が維持された。5 代継代を繰り返したウイルスの 3 つの構成蛋白をコードする遺伝子の塩基配列は元のワクチンウイルスと同じだった。又、このウイルスの RK13 細胞での増殖は元のワクチンウイルスと同様に 39 で著しく抑制され、ワクチンのマーカーである増殖性における温度感受性も保持していた。無血清培地 DM201 に馴化させた Vero を用いた無血清培養によるワクチン製造の可能性が示された。[海野幸子、大槻紀之、加藤宏幸、門澤和恵、大良勇治]

### 4. ワクチン製造株の品質管理に関する研究

各製造所によってシードロットの設定案が示され、それらの現行の製造における位置とこれまでのワクチン製造の変遷を知ることになった。製造承認株からこれまでのワクチンよりも継代をすすめて製造される新しいシードを用いるワクチン製造計画の問題点をシードロットシステムの原則に照らして考察した。これまで市場に出たことのない継代数のワクチンが製造される場合は市販後調査による有効性と安全性の確認が必要と思われた。また、シードロットシステムにおいて国際的な調和をはかり、且つ試験を合理的に実施するために品質管理方法の一部を変更する必要があった。[海野幸子、大槻紀之]

## ・ 麻疹ウイルスに関する研究

### 1. Vero/hSLAM 細胞の有用性に関する研究

臨床材料からの麻疹ウイルス野生株の分離効率を Vero/hSLAM 細胞と B95a 細胞で比較し、両者に差がないことを確認した。また同一検体から両細胞で得られた麻疹ウイルスの H 及び N 遺伝子の塩基配列は完全に一致していた。さらに Vero/hSLAM 細胞を用いて現行のワクチン株と野生株の一部について Vero/hSLAM 継代にともなう H 遺伝子領域の変異について検討したが、5 代までの継代では変異は認められなかった。また中和抗体測定などの血清診断への応用も可能であった。Vero/hSLAM 細胞では麻疹ウイルスの増殖効率が RK13 より良好なことを報告したが、今後は麻疹・風疹混合(MR)ワクチンの力価試験等への応用も検討している。[齋藤義弘\*、菅井敏行、染谷健二、沼崎啓、田

代真人：\*慈恵医科大学小児科]

### 2. 牛由来成分を使用しない新たなワクチン製造の開発に関する研究

現行の弱毒生麻疹ワクチンの製造には鶏初代胚細胞が利用され、その過程において牛胎児血清やその他の動物由来成分が使用されている。より安全で有効性のワクチンの開発、導入のために動物由来成分の排除の可能性について検討した。鶏有精卵より胚を取り出しブタ臍由来の trypsin を使用せずに単離することは可能であった。しかし、現在使用可能な無血清培地を用いて麻疹ワクチンウイルスを増やした場合の増殖量は従来法の約 1/10 であった。ウシ血清などを使用せずに十分なウイルス量を収集するためには新たなウイルス培養法の確立のみならず、新規ワクチン株の導入に関しても検討が必要なものだと判断された。[齋藤義弘\*、沼崎啓、田代真人：\*慈恵医科大学小児科]

### 3. 麻疹ワクチンの製造株の品質管理におけるシードロットシステム導入に関する研究

麻疹ワクチンの有効性と安全性の確保の目的で製造過程におけるシードロットシステムの導入は不可欠である。生物学的製剤基準のもとで、本システムを導入するためには、製造過程において十分な量のワーキングシードを設定し、そのシードウイルスの性状が製造承認株から 5 代目以内で弱毒確認試験に合格したウイルスと同等であることを証明する必要があるものと判断された。[齋藤義弘\*、菅井敏行、染谷健二、沼崎啓、田代真人：\*慈恵医科大学小児科]

### 4. 麻疹ワクチン接種後の免疫記憶と SVF に関する研究

近年、小学校高学年、中学生以降の年長者における麻疹の集団発生の報告が認められる。幼児期のワクチン接種によって麻疹の免疫をいったんは獲得しても、その後の周囲での麻疹の流行が減り、麻疹ウイルスに曝される機会がなくなったために追加免疫が得られないために麻疹免疫の減衰が生じる。この集団に麻疹ウイルスが侵入すると流行が起ることになる。secondary vaccine failure(SVF)が primary failure かは、血清の IgG avidity を測定することで判別できる。年長者の麻疹の集団感染事例における IgG avidity を調べた結果、SVF の事例が確認された。[岡田晴恵、田代真人]

## ・ ムンプスウイルスに関する研究

### 1. おたふくかぜ生ワクチン接種後のムンプス発症例

おたふくかぜ生ワクチン接種後にムンプスを発症した3例について調査をおこなった。1例目はワクチン接種後、3週間後に発熱、頭痛、嘔吐を訴えたケースである。ムンプスウイルスワクチン株が分離され、ワクチンの副反応と判断した。2例目は、ワクチン接種後7年後に耳下腺腫脹を訴えたケースであり、咽頭拭い液からムンプスウイルス野外株が分離された。ワクチンがテイクしていなかったものと推察された。3例目はワクチン接種後17日目に右顎下腺腫脹を訴えたケースである。咽頭拭い液からムンプスウイルスワクチン株が分離され、ワクチンの副反応と判断した。[加藤篤、木所稔、河合朋樹\*、名木田章\*\*、田代真人：\*静岡市立静岡病院、\*\*倉敷市水島中央病院]

## 2. ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子の同定

ムンプスウイルスの病原遺伝子、特に中枢神経病原性に関わる遺伝子を特定することはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する目的のみならず、おたふくかぜワクチンの品質管理やシードロットシステムの維持管理の上でも重要な意味を持つ。そこで我々は、千葉県血清研究所で野外株 Y7 から分離された中枢神経病原性の異なるウイルス株 Y125 と Y213 のゲノム配列を比較することによって中枢神経病原性遺伝子を同定することを試みた。その結果、NP、V、M、F、L 遺伝子の合計7カ所にアミノ酸の変異を伴う塩基配列の違いが認められた。一方 SH、HN 遺伝子には違いが認められず、中枢神経病原性にこれらの遺伝子が関与しないことが示唆された。[木所稔、加藤篤、齋加志津子\*、窪谷弘子\*、田代真人：\*千葉県衛生研究所]

## 3. おたふくかぜ生ワクチンの牛由来成分を使用しない培養方法に関する研究

現行のおたふくかぜ生ワクチンは牛血清等の動物由来物質を含む培地で増殖維持されたニワトリ胚繊維芽細胞 (CEF) を用いて製造される。ワクチン製造における動物由来因子及び初代細胞の利用はそれらに由来する感染性因子が製剤中に迷入する危険性を伴う。そこで、ポリオウイルス不活化ワクチンの製造に使用予定の素性がはっきりした Vero 細胞を日本ポリオ研より分与を受け、従来の牛血清入り培地と、無血清培地とでそれぞれ培養した株に市販ワクチン等を接種し、8代まで継代した。増殖してくるウイルスの性状をブラックサイズの変化によって検討したところ、どちらのブラックサイズも継代前よりは直径が増していた。そのため、製造現場に当てはめるのは好ましくないとされた。[加藤篤、木所稔、田代真人]

## 4. おたふくかぜ生ワクチン製造株の品質監理に関する研究

ムンプスウイルスをはじめワクチンの基になっている生ウイルスは、環境に適応するという本来の生物の特性により変異しやすい性質を持つ。しかし、有効性と安全性といった基準を満たし製剤として認可された以上は、製品として一定の品質を保つ事が要求される。均一な製品を安定的に製造・供給する方法として考えられたのが、シードロットシステムである。製造各所社のワクチン株の継代履歴をもとに、生物学的製剤基準にある「製造承認株からの継代は5代以内」という大原則を壊さない範囲でシードロットシステムを実行する方策を検討し、その実施案を各社、各生ワクチン製剤毎に設定した。[加藤篤、木所稔、田代真人]

## V. インターフェロン、急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

### 1. プロテアーゼによる SARS コロナウイルスの感染増強

SARS コロナウイルス (SARS-CoV) は重症急性呼吸器症候群の原因病原体であり、その受容体は angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) である。ACE2 は SARS-CoV の主要標的組織の肺だけでなく、他の多くの組織に発現されウイルス増殖が観察されているが、肺での高いウイルス増殖機構 / 強い組織破壊に関しては不明である。本研究の目的は、SARS の病態解明である。Bates 等の研究により、SARS-CoV は endosome pathway で侵入し、endosome 内で trypsin 様プロテアーゼによりスパイク (S) 蛋白が解裂活性化し、ウイルスエンベロープと endosome 膜が融合し、ウイルスが細胞内に侵入すると予測されている。我々は、thermolysin, elastase などが trypsin と同様の活性があること、また、これらのプロテアーゼは ACE2 に結合した SARS-CoV に作用し、直接細胞膜から細胞内侵入を可能にすることを明らかにした。即ち、SARS-CoV は endosome と細胞膜の2つの異なる経路から感染することが明らかになり、その経路はプロテアーゼにより決定されることが示唆された。更に、プロテアーゼ存在下で 100-1000 倍効率良く感染が進み、プロテアーゼによる細胞膜經由感染は通常の endosomal pathway 感染より効率が良いことが判明した。以上の結果から、SARS-CoV の肺などの主要標的組織における高いウイルス増殖は肺で産生されるプロテアーゼが大きく関与することが示唆された。[松山州徳、氏家誠、川瀬みゆき、森川茂\*、田代真人、田口文広：\*ウイルス第一部]

## 2. SARS ウイルス スパイク蛋白質の Heptad Repeat 由来 Peptide による細胞表面径路ウイルス侵入の抑制

一般に、エンベロープウイルス膜融合蛋白質の HR 由来 peptide(HR-p)は抗ウイルス作用を示すため、SARS コロナウイルス (SARS-CoV) スパイク (S) 蛋白質 HR-p(SHR-p) も抗ウイルス薬の候補として期待されたが、同属のマウス肝炎ウイルス (MHV) S 蛋白質の類似 HR-p に比べその効果は著しく低い。これは、SHR-p と SARS-CoV -S との親和性の低さが主な原因と考えられていた。しかしながら、MHV が細胞表面からの侵入経路しか持たないのに対し、SARS-CoV は細胞表面とエンドサイトーシスの 2 つの経路から侵入可能であるため、この違いは感染経路の違いに起因する可能性も考えられる。我々は、SHR-p の低い抗ウイルス活性の原因を明らかにするために、SHR-p と SARS-CoV -S との親和性を *in vitro* で測定すると共に、SHR-p の抗ウイルス活性を感染経路ごとで検討した。その結果、HR2 由来天然配列及び天然配列の 2 次構造を維持した合成配列は、*in vitro* 実験系において 10 nM 以下の低い濃度で HR1 と HR2 の結合を阻害した。また、エンドサイトーシスで細胞侵入する場合と比べ、細胞表面からの感染が主な環境下では SHR-p は、100 倍 ~ 200 倍の効率で SARS-CoV の感染を阻止した。これらの結果より、SHR-p の低い抗ウイルス活性は S 蛋白質との親和性の低さが原因ではなく、感染経路の違いに起因すると考えられた。また、SHR-p が潜在的な抗 SARS-CoV 薬としての活性を持つ事、そして、これ等の SHR-p を効率良くエンドソームにターゲティングする事で、抗 SARS-CoV 活性の高い薬剤の開発が可能になることが示唆された。[氏家誠、川瀬みゆき、西川裕輝\*、伊藤沙織\*、大石真也\*、大高章\*\*、山本直樹\*\*\*、山本典生\*\*\*、松岡雅雄\*\*\*\*、児玉栄一\*\*\*\*、藤井信孝\*\*、田口文広：京大薬学\*、徳島大学ヘルスバイオサイエンス\*\*、東京医科歯科大\*\*\*、京大ウイルス研\*\*\*\*]

## 3. SARS-CoV スパイク(S)蛋白質のシステインリッチ領域 (Cys-rich)は膜融合活性及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つ

SARS-CoV スパイク(S)蛋白質は膜貫通領域及び細胞質内領域に特徴的な Cys-rich 領域を持つ。この領域が S 蛋白質の膜融合活性にどのような役割を持つのかを明らかにするため、Cys-rich 領域に変異を導入した S 蛋白質変異体を作製しその解析を行った。この結果、S 蛋白質の Cys-rich は膜融合活性及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つことが明らかとなった。[氏家誠、福士秀悦\*、森川茂\*、田口文広：\*ウイルス第一部]

## 4. GFP 融合 SARS-S 蛋白質をもつ MHV-virus like particle(VLP)の作製

SARS-CoV は S 蛋白質を介して細胞表面から侵入する経路と、エンドサイトーシスを通して侵入する 2 つの経路が存在すると考えられているが、直接的な証拠はない。我々は、SARS-S 蛋白質が仲介する細胞侵入機構を詳細に解析する事を目的として、GFP 融合 SARS-S 蛋白質をもつ MHV-VLP(SARS-S-GFP/MHV-VLP)を作製し、蛍光顕微鏡下ライブでこの VLP を観察することを試みた。その前段階として SARS-S-GFP/MHV-VLP の作製を行った。この結果、SARS-S-GFP/MHV-VLP はウエスタンブロッティング法により GFP が VLP 粒子内に取り込まれている事を確認した。また、粒子表面の SARS-S-GFP はレセプター活性・膜融合活性を維持している事を確認した。現在は、蛍光顕微鏡下で、SARS-S-GFP/MHV-VLP が観察できるかどうか検討中である。[氏家誠、松原尚子、牧野伸治\*、田口文広：\*米国テキサス大]

## 5. ヒトコロナウイルス 229E の簡便な定量法の確立

ヒトコロナウイルス 229E は鼻風邪の原因ウイルスであり、グループ 1 のコロナウイルス群に属する。従来 229E の増殖、定量には HeLa 細胞からの subline L132 細胞等が用いられてきたが、HeLa 細胞と比べると、細胞維持が容易でなく、ウイルス力価の定量には幾つかの課題があった。そこで、当研究室で使用している HeLa に 229E を感染させたところ、細胞の円形変性を伴う CPE が観察され、感染細胞のトリプシン処理により、巨細胞が出現することが判明した。この巨細胞をクリスタルバイオレット染色することにより、顕微鏡下でブランクとして観察され、ブランク形成は one-hit kinetics を示し、簡単に信頼性の高い定量法として確立された。この定量法により、229E の HeLa 細胞での増殖曲線、229E が aminopeptidase N を受容体として利用することなど、229E の一般性状が明らかにされた。[田口文広、川瀬みゆき]

## 6. 川崎病の病因に関する研究

川崎病は乳幼児に好発する急性熱性疾患で、全身の中小動脈炎が特徴であり、冠動脈病変の合併が大きな問題である。日本では年間約 8000 例の発症がある。疫学的な特徴から、病原体が川崎病発症のトリガーになっている可能性が古くから指摘されているが、まだ本体は明らかではない。昨年 Esper 等は川崎病患者から高率にヒトコロナウイルス (HCoV) 遺伝子を PCR で検出した。我々は HCoV と川崎病の因果関係を調べる目的で、川崎病患者血清中の HCoV (229E, NL63) に対する抗体を蛍光抗体法で調べた。その結

果、各々NL-63, 229E に対して、川崎病急性期血清は約 40% が陽性を示し、回復期血清では約 70% であった。非患者対照群では、NL-63, 229E に対して各々50%と 13%であった。これらの結果から、NL-63 は回復期では陽性率がかなり高いものの、非患者対照でも 50%を示し、患者特異的に感染があるとは推測できない結果となった。一方、229E に対する抗体は、回復期では約 70%と極めて高い値を示し、健常児対照群の 13%と比べると、川崎病の原因病原体である可能性を否定しないデータが得られた。本研究では、日赤医療センターからの患者血清、感染研血清バンクからの非患者対照血清を用いた。[田口文広、中垣慶子、川瀬みゆき、松原尚子、白戸憲也、今田義夫\*、苛原香\*、本間順\*、今井庸子\*、土屋恵司\*、麻生誠二郎\*、園部友良\*：\*日赤医療センター]

#### 7. LAMP 法による RS ウイルス検出法の開発

RS ウイルスの診断はウイルス分離、イムノクロマト法による抗原検出等によってなされる。RS ウイルスは熱、pH 等に対し不安定なため、サンプルを低温で迅速に輸送する必要があり、ウイルス分離は比較的困難である。またイムノクロマト法による抗原検出は臨床上有用であるが、特異度、感度は 70~90%である。そこで、RS ウイルスの高感度な遺伝子検出法として、Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP)法による RS ウイルス検出法の開発を行った。RS ウイルスの A 型、B 型のそれぞれについてプライマーセットを設計し、特異性を調べたところ、A 型のプライマーセットは A 型のみ、B 型のプライマーセットは B 型のみを検出し、他の呼吸器疾患を引き起こすウイルス DNA、RNA およびバクテリアゲノムは検出されなかった。また段階希釈ウイルスサンプルを用いて感度を調べたところ  $10^{-2}$ PFU 相当のウイルスが検出可能であった。さらに 59 例の RS 感染症疑い患者の鼻咽頭分泌液からウイルス検出を行ったところ、95%以上のウイルス分離陽性または抗原検出陽性サンプルで RT-LAMP 陽性であった。一方、ウイルス検出、抗原検出ともに陰性のサンプルのうち 12.5%で RT-LAMP 陽性であった。よって本法は RS ウイルス検出に有用であると考えられる。[白戸憲也、西村秀一\*、西條政幸\*\*、岡本道子\*、野田雅博、田代真人、田口文広：\*仙台医療センター、\*\*ウイルス第 1 部]

#### 8. アデノウイルス感染におけるヒト血清中和抗体測定法の標準化

1950 年代から今日に至るまで、ヒトアデノウイルス(HAdV)に対するヒト血清中和抗体測定法は内外ともに統一されていない。その主な理由は、HAdV の特殊性(50 種

類以上の血清型があり、型により生物学的性状が異なる；感染価測定が容易でない；使用する細胞、器材が大きく変化してきた；臨床的にも HAdV 感染症それ自体が社会的に重要視される位置付けにない等)によると考える。しかしながら将来的に考えれば、基本的な点で測定方法を統一しておく意義は少なくない。たとえば、測定値を比較、評価する上でもたいせつであろう。その為の諸条件について実際の現場の立場から、型特異的免疫血清およびヒト血清を使用し再検討を行っている。[荻野利夫、吉井孝男、田代真人]

#### 9. 国内臨床分離株の抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体に対する反応性

臨床分離株において抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体に対して難結合性の株の存在の有無を 2004 年度に引き続き検討した。国内臨床分離株 35 株(サブクラス A：22 株，サブクラス B：8 株およびサブクラス未同定株：5 株)を用いて中和反応を行った結果、今回供試した 35 株はすべてに抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体で中和された。[野田雅博、田代真人、水田克己\*、七種美和子\*\*、野口有三\*\*：\* 山形県衛生研究所、\*\*横浜市衛生研究所]

#### 10. パラミクソウイルスのアクセサリ-遺伝子の機能

パラミクソウイルスのアクセサリ-遺伝子である V や C 蛋白質について、最近、センダイウイルス(SeV)の C 蛋白質、ムンプスウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス 2 型、ニューカッスル病ウイルス、麻疹ウイルスの V 蛋白質がインターフェロン(IFN)を阻害し、細胞が抗ウイルス状態になるのを妨げていることが明らかになってきた。このようなウイルスの抗 IFN 能がウイルス増殖にとってどの程度重要なのか調べるために SeV の C 蛋白質にアミノ酸置換を導入し、抗 IFN の無いウイルスを作成した。培養細胞レベルの増殖度が 1/10 以下に低下していることが判明した。[加藤 篤、久保田 耐、田代真人、永井美之\*：\*理研]

#### ・ その他の研究

##### 1. ワクチン開発迅速化のためのセンダイウイルスベクター基盤的技術開発の研究

センダイウイルスは、ほ乳類細胞や鳥類細胞で旺盛に増殖するため、センダイウイルスをベクターとした場合にも、多くの細胞で大量発現を期待できる。一方、パラミクソウイルスには IFN を無効化する能力が備わっている事がわかり、ベクターとして用いた場合にベクターの抗 IFN 能力

が、どの宿主細胞にディメリットを与えるのかを検討した。抗 IFN 能を保持したままのウイルスベクターを感染させると、続いてを感染させた VSV 非常に旺盛に増殖し、ウイルス感受性が増加する事が確認できた。ベクターとして長期間使用する場合には二次感染に注意が必要であった。[加藤 篤、森本金次郎\* : \*ウイルス第一部]

## 2. ワクチンの品質管理に関する検討 (続)

細胞培養用牛血清の多くにはウシポリオーマウイルス (BPyV) の遺伝子断片が混入していること、また一部のヒト用生ワクチンから本ウイルス遺伝子断片が検出されることが明らかとなっている。一方本ウイルスの遺伝子配列等は十分に明らかとされていない。そこで完全長 BPyV 遺伝子の決定及び 線照射による BPyV 遺伝子の切断に関する影響を調査した。この結果3ロットの牛血清から得られた BPyV 遺伝子断片より完全長 BPyV 遺伝子配列を決定した。この結果 BPyV 遺伝子には一定の多様性を持つ事が推測された。また 線照射により BPyV 遺伝子が切断されることが示唆された。[大槻紀之、伊藤治\*、海野幸子、田代真人 : \*農林水産省動物医薬品検査所]

## 3. 小児期および周産期に特有なウイルス感染症の予防に関する研究

妊娠中のサイトメガロウイルス (CMV) の初感染の発生頻度は 0.7~4.1% と推定されそのうち約 40%で胎児に感染が移行する。CMV 胎内感染の発生頻度は検索母数が 4,000 以上に限定すると 0.29~0.48% とほぼ一定である。年代別の胎内感染の発生頻度は経時的に低下したが、臨床的に問題となる症候性胎内感染の発生頻度は増加傾向であった。更に CMV UL 144 の遺伝子領域の hypervariable region を PCR で系統樹解析するとともに glycoprotein B (gB) の多様性についても検討した。系統樹解析では 5 group 3 clade に分類され、gB には 3 型が確認された。[沼崎啓、堤 裕幸\* : \*札幌医科大学]

## 4. マウス肝炎ウイルスの受容体非依存性感染に関する研究 : spinoculation 法を用いた解析

マウス肝炎ウイルス (MHV) は MHV 特異的受容体 (MHVR) を介して細胞に侵入するが、神経病原性 MHV-JHM 株 cl-2 は MHVR を介して感染後、感染細胞から MHVR 非発現細胞へ感染することが知られている (MHVR 非依存性感染)。これは標的細胞の近傍に存在する S 蛋白が MHVR に結合すること無く活性化 (構造変化) することによって考えられる。この可能性を検証するため、spinoculation 法 (細胞にウイルスを接種し、1750g で遠心) でウイルス粒子と細胞を隣接

させることにより、MHV が MHVR 非発現細胞へ感染するかどうかを検討した。リアルタイム PCR により spinoculation で接種したウイルスの細胞への吸着は著しく上昇し (20-150 倍)、その吸着率には cl-2、srr7 間で差がないことが明らかになった。また、spinoculation により、cl-2 の BHK への感染は著しく促進された (約 200 倍) が、srr7 の感染は認められなかった。また、受容体非依存性感染力がある組換え cl-2 S 発現細胞では、S1 が培養上清中へ自然遊離したが srr7 では認められなかった。これらの結果から、受容体非依存性感染は粒子が細胞に接着することと S1 が S2 から遊離することが不可欠であることが示された。以上結果は、これまで提唱されている受容体非依存的感染機構と矛盾しないことが明らかとなった。[渡辺理恵、田口文広]

## 5. マウス肝炎ウイルス変異株 (JHM-srr7) のマウス大脳分離培養細胞への感染に関する研究

マウス肝炎ウイルス (MHV) は CEACAM1 (MHVR) を受容体として利用するが、神経病原性 JHM-wt 株は MHVR を持たないマウスの脳内の多くの細胞に感染伝播し、急性、慢性の脳脊髄炎を起こす。我々は、新生マウスの神経系培養細胞では、wt および wt 由来で MHVR 依存性にのみ感染する JHM-srr7 変異株の両ウイルス共に MHVR を発現する microglia 系の細胞に感染すること、JHM-wt はその後には MHVR を持たない細胞へも細胞融合という様式で感染が拡大すること (MHVR 非依存性感染) を報告してきた。これらの結果は、マウスに対する神経病原性に反映されている。本実験では srr7 株の神経系培養細胞への感染を長期に観察し、ウイルス感染細胞が周囲細胞へ及ぼす変化について観察した。新生マウス大脳から分離した細胞培養系は主に neuron, astrocyte とその前駆細胞からなり、MHVR を発現する microglia 系の細胞は少数であった。Wt 感染では感染後 24 時間で殆ど全ての細胞に感染拡大し培養全体が細胞融合を示したが、srr7 感染後 24 時間では MHVR を発現する細胞にのみ感染が限定されていた。しかしながら、srr7 感染後 2 日、3 日と時間が経過するにつれ、wt 感染同様に MHVR を持たない neuron, astrocyte, oligodendrocytes に細胞融合が拡大し、その培養液中には高い力価のウイルスが認められた。即ち、長期感染により srr7 でも MHVR を持たない細胞への感染拡大が認められた。現在この感染メカニズムに着いて解析を行っている。[中垣慶子、田口文広]

## レファレンス業務

### 1. 動物インフルエンザウイルス系統保存における共同研究

新型インフルエンザウイルスの出現時に、それに抗原性が近似したワクチン製造株を速やかに供給できるように、自然界に存在する 15 種類の HA 亜型のウイルスの収集・系統的分類およびそれらに対する抗血清の作製を完了させた。本年度も新たに野鳥からは 1 株が分離され、抗原解析の結果、A/H1N1 型であることが分かった。また、ブタからは、1 株の A/H1N2 型ウイルスが分離され、トリのウイルスとともに感染研の動物インフルエンザウイルス保存バンクに組み込まれた。これら解析結果は、ウイルスを分離し供与してくれた地衛研に個別に報告された。[今井正樹、二宮愛、板村繁之、小淵正次、影山努、斎藤利憲、小田切孝人、田代真人]

### 2. 高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル(改訂版)の公開

2005 年 6 月、茨城県の養鶏場で飼育されているニワトリから、弱毒型の H5N2 鳥インフルエンザウイルスが分離された。これに伴い、養鶏場関係者ならびに殺処分作業従事者の感染監視が行われることとなった。2004 年 1 月に感染研ホームページに掲載した「RT-PCR 法による H5 鳥インフルエンザウイルス遺伝子の検出」は、2004 年からの東アジア諸国における高病原性 H5N1 鳥インフルエンザへの対応策として作成されたものであり、系統の異なる茨城ウイルス(中米系統)の検出感度は低かった。そこで、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスと中米系統ウイルスの両者を高感度で検出できる方法に改良し、2005 年 7 月に「RT-PCR 法による H5 鳥インフルエンザウイルス遺伝子の検出(第 2 版)」として感染研ホームページに掲載した。[影山努、今井正樹、二宮愛、板村繁之、小淵正次、斎藤利憲、小田切孝人、田代真人]

### 3. 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

2005 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/New Caledonia/20/99(IVR-116)(H1N1)、A/New York/55/2004 (H3N2)、B/上海/361/2002 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)を作製した。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、米国の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、CBERT と協力して国際的な標準に基づいて実施した。また、海外の標

準抗原の抗原量の設定についても同様に協力を行った。

[板村繁之、河野直子、小田切孝人、田代真人]

### 4. 急性ウイルス性呼吸器疾患原因ウイルスのレファレンス体制構築に関する対応

急性ウイルス性呼吸器疾患原因ウイルスのレファレンス体制を再整備することを目的として、呼吸器関連ウイルスの標準株の収集、保存を 2004 年度に引き続き行った。また、これらウイルスの増殖/同定に用いる各種試薬等の整備等をあわせて行った。[野田雅博、田代真人]

### 5. 急性ウイルス性呼吸器疾患原因ウイルスの株の保存に関する対応

急性ウイルス性呼吸器疾患症例から分離同定された種々の臨床ウイルス株の保存を行った。[野田雅博、田代真人]

## サーベイランス業務

### 1. ヒトインフルエンザウイルス流行株のサーベイランス

インフルエンザの流行状況を把握し、次シーズンのワクチン株を選定するために全国 76 地方衛生研究所および感染研感染症情報センターの協力のもとに、インフルエンザウイルス流行株の詳細な性状解析をおこなった。2005/2006 シーズンは流行のピークが第 3~4 週にみられ、ウイルス分離数から見た規模は例年並みであったが、春以降も数県で B 型の散発的な流行がみられた。A/H1、A/H3、B 型の分離比はそれぞれ 25%、66%、9%であった。A/H1 分離株の大半はワクチン株 A/New Caledonia/20/99 類似株であったが、抗原変異株も少数分離された。A/H3 はワクチン株 A/New York/55/2004 とは抗原性の異なる株が 7 割近くを占め、その半数以上は次シーズンワクチン推奨株の A/Wisconsin/67/2005 類似株であった。HA 遺伝子の解析結果からもこれらの分離株のほとんどは A/New York/55/2004 とは区別できる一群を形成した。B 型は昨シーズンとは異なり、全ての分離株は Victoria 系統株であり、抗原的にも遺伝的にも 2006 シーズン南半球のワクチン株 B/Malaysia/2506/2004 類似株であった。これら、解析結果は定期的に WISH-NET を通じて地方衛生研究所に報告された。また、年 2 回開催される WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議で報告された。さらに衛生微生物技術協議会、日本ウイルス学会等の研究集会を通じて研究機関へ還元され、感染研 HP で一般にも還元された。[小淵正次、斎藤利憲、福家優、影山努、望月菊、野崎智子、板村繁之、今井正樹、二宮愛、河野直子、小田切孝人、田代真

人]

## 2. インフルエンザワクチンの臨床評価研究

ワクチンによって得られる抗体が抗原性の変化した流行株にどれくらい交叉反応するのか調べることは、ワクチンの有効性とワクチン株の変更の必要性を検討する上で重要である。ウイルス3部第1室では成人層および老人層の各群30名からワクチン接種前後のペア血清検体を収集し、流行株との交叉反応性を評価した。同様の評価を英国、米国およびオーストラリアから入手した血清についても行い、その成績はWHOインフルエンザ協力センター間で交換して、年2回開催されるWHOインフルエンザワクチン推奨株選定会議に有効に活用された。[小淵正次、斎藤利憲、福家優、野崎智子、斉藤玲子\*、鈴木宏\*、柏木征三郎\*\*、小田切孝人、田代真人：\*新潟大学医学部公衆衛生学、\*\*福岡県赤十字血液センター]

## 3. ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランス

抗インフルエンザ薬としてノイラミニダーゼ阻害剤である燐酸オセルタミビル(タミフル)やザナミビル(リレンザ)が開発され、先進諸国ではインフルエンザの治療薬として臨床現場で使用されている。しかし、これらの薬剤に対する耐性株の出現頻度や耐性株の性状などに関する情報が少ないことから、WHOではノイラミニダーゼ阻害剤耐性株ネットワーク(NISN)を設立して世界規模で耐性株に関するサーベイランスを行っている。我が国は世界で使用されるノイラミニダーゼ阻害剤の2/3が消費されるといわれていることから、NISNによる耐性株サーベイランスの最重要調査国となっている。そこで、ウイルス3部第1室はNISNの一員として一昨年、昨年に続いて我が国におけるノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランスを実施した。全国の地方衛生研究所の協力を得て2004/2005シーズンの分離株約2600株(前年度の2倍)を収集し、海外検査機関に送付し薬剤耐性株スクリーニングを行った。[小淵正次、斎藤利憲、福家優、野崎智子、影山努、板村繁之、今井正樹、二宮愛、望月菊、河野直子、小田切孝人、田代真人]

## 4. 新型インフルエンザ株サーベイランス早期情報収集システムの構築

新型インフルエンザの流行に備えた国内体制を速やかにとるためには、新型インフルエンザが出現したことをいち早く察知する必要があり、そのためのサーベイランス体制を確立することが重要である。現行の病原体サーベイランスでは、地衛研でウイルス分離と型(亜型)の同定が行

われ、その結果は厚生労働省のWISH感染症検査情報オンラインシステムを通じて感染研感染症情報センターに報告された後に当室に提供される。しかし、パンデミック時には関係機関が膨大な情報を速やかに処理して利用する必要のあることなどから、2006年度より感染症検査情報オンラインシステムが刷新されることになった。それにより、新システムでは現行の週単位の病原体検出情報データが時間単位で取得でき、当室の解析結果もただちに各機関に還元できるようになる。そこで、新システムのこれらの機能に対応するために当室の受付管理システムのハードウェアおよびソフトウェアを全面的に改良した。さらに、現行の受付管理システムは現在流行しているインフルエンザのみを対象としているため、新型インフルエンザに対応できるようにアプリケーションソフトに新たな項目を追加した。[小淵正次、影山努、小田切孝人、田代真人]

## 5. 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。全国76地方衛生研究所および関連施設の協力のもとに、2005/2006シーズンの分離株より、A/H1型26株、A/H3型100株、B型123株のHA1遺伝子について解析を行った。A/H1型では、分離株の大半がワクチン株A/New Caledonia/20/99類似株であったが、140Eや186Nアミノ酸置換を持つ変異株も少数分離された。A/H3型では、193Fアミノ酸置換を有するA/広島/52/2005類似変異株がほとんどで、ワクチン株A/New York/55/2004類似株はほとんど分離されなかった。また、A/New York/55/2004類似株やA/広島/52/2005類似株とは遺伝的に区別できる、78Dアミノ酸置換を有する一群あるいは188Yアミノ酸置換を有する一群を形成する株も多数分離された。B型では、分離株の全てがVictoria系統であり、遺伝的にも南半球のワクチン株B/Malaysia/2506/2004類似株と同じ一群を形成した。[影山努、望月菊、小淵正次、斎藤利憲、福家優、野崎智子、小田切孝人、田代真人]

## 6. 日本のブタへの新型インフルエンザウイルスの侵入監視

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でのインフルエンザウイルスの流行監視を目的として、前年度までブタにおける鳥インフルエンザウイルスに対するHI抗体保有調査を行ってきた。しかし、本調査では抗体陽性例が検出されてもその後の追跡調査や必要な対策を迅速かつ適切に講ずることができないなど多くの問題点があった。そこで、本年度からは得られた検査結

果が新型インフルエンザ対策に直結するよう、抗体検出法からウイルス分離法に変更して調査を実施した。全国 14 地区の地衛研に依頼して、ブタの鼻腔ぬぐい液あるいは気管ぬぐい液からウイルス分離を行った。検体を MDCK 細胞に接種し、細胞変性効果を観察したところ、1553 検体中 1 検体で陽性反応が検出された。この陽性検体について赤血球凝集反応および迅速診断キットでウイルス抗原を検出したところ、全て陰性であったことから、ウイルス感染は否定された。したがって、現時点では本邦のブタでは鳥インフルエンザウイルスは確認されておらず、新型ウイルスの侵入の形跡は見られなかった。[今井正樹、二宮愛、小田切孝人、田代真人]

#### 7. 風疹の流行予測調査

風疹は感染症流行予測調査の対象疾病であるため、感受性調査用標準血清（HI 抗体陽性血清と陰性血清）を 16 県に提供した。標準品の抗体価が地方衛生研究所よりも 2～4 倍低めに測定される原因として、希釈機器の違いによる影響を調べた。旧機器では希釈時の持ち込み量が規定より少なく、得られる抗体価も低かった。今後は多くの地研が使用している新しい機器で測定した抗体価で表示することとした。また、アクリノールによるインヒビター処理法と従来通りのカオリン処理法を比較した。抗体価が幾分低めになることと手順の面倒さから、従来通りカオリン処理法だけを調査術式とした。地研の抗体調査結果を解析した。[海野幸子、大槻紀之、加藤宏幸、感染症情報センター第三室]

#### 8. 感染症流行予測調査事業に係る感染源調査

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第 15 条の規定に基づき、計 173 例の検体からウイルス分離を実施した。[野田雅博、宮嶋直子、今井正樹、二宮愛、小田切孝人、田代真人]

#### 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、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。[板村繁之、河野直子、矢野茂生\*、布施晃\*、落合雅樹\*\*、堀内善信\*\*、小田切孝人、田代真人：\*血液安全性研究部、\*\*細菌第 2 部]

##### 2. インターフェロン収去試験

2005 年度のインターフェロン収去試験として、7 品目の製剤に関する検査を行った。その結果、6 品目については全て社内規格値に達していたが、1 品目の組換えインターフェロンが製造会社社内規格（70・150%）力価を満たしていなかったため、不適とした。本省監視指導課の指導により、当該会社と 2 度の会合を持ち、不適に至った原因究明のため討議し、今後のインターフェロン力価測定方法について指導した。[白戸憲也、川瀬みゆき、斎藤早久良\*、田口文広、田代真人：\*当部客員研究員]

#### 国際協力関係業務

##### 1. WHO 西太平洋地域（WPR）諸国へのインフルエンザ株サーベイランス支援

中国は新型インフルエンザの出現にとって重要な地域であるとともに世界のワクチン標準株が多く分離される国であることから、中国におけるインフルエンザサーベイランス情報およびウイルス分離株は世界のインフルエンザ対策にとって重要である。しかし、中国国内におけるサーベイランス網の整備や海外諸国との連携は発展途上にあり、このために感染研、米国 CDC、WPR 事務局が協力して 2000 年から 5 年計画で中国インフルエンザ株サーベイランスの強化を目的とした技術支援を行ってきた。昨年度でこの 5 年計画が終了し、一定の成果が得られたことからさらなる進展のために第 2 次 5 年計画が開始された。

一方、感染研は株サーベイランス連携国へ株抗原解析用標準抗血清キットを毎年配布し、それらの国から亜型同定が行われた分離株を定期的に入手している（中国 185 株、台湾 13 株、韓国 10 株、モンゴル 15 株）。これら海外分離株については、さらに詳細な抗原解析および遺伝子解析を行った。解析結果はそれぞれの国に適宜還元されるとともに WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議で推奨株選定のための資料として活用された。[小淵正次、影山努、斎藤利憲、福家優、望月菊、野崎智子、板村繁之、今井正樹、二宮愛、河野直子、小田切孝人、田代真人]

##### 2. 高病原性鳥インフルエンザ感染診断系の構築における国際協力

## ウイルス第三部

高病原性鳥インフルエンザの流行の中心である東南アジア諸国は、実験室感染診断系の構築およびその精度管理面において、機材、試薬等設備的に恵まれていないことに加えて、実験担当者の知識、技能レベルにおいても依然として大きく立ち遅れている。このために、これら流行国へは先進諸国からの物質的、技術的支援が不可欠である。そこで感染研ウイルス3部第1室からは、前年度からベトナムホーチミン市パスツール研究所へ研究員を派遣し、試薬の供与、診断技術指導を行ない、今年度も引き続き支援を行なった。さらに、今年度はJICAの予算的支援を受け、新たにインドネシア保健省国立衛生研究所に対して診断機材、試薬の供与を行ない、感染診断技術指導のために免疫部からの協力者2名を加えた総勢7名の研究員を9-11月にかけて派遣した。

一方、3月にはその後のフォローアップとバイオセーフティー指導のためにベトナムに6名、インドネシアに3名を再派遣した。また、東南アジア地区で高病原性鳥インフルエンザの流行報告が殆ど挙がってこないミャンマー、ラオスへ調査隊を派遣して流行状況の実態調査および技術支援計画について協議、検討を行なった。[小田切孝人、板村繁之、小淵正次、今井正樹、影山努、横田恭子\*、大島正道\*、篠原克明\*\*、谷口清洲\*\*\*、田中政宏\*\*\*、森兼啓太\*\*\*、中嶋健介\*\*\*\*：\*免疫部、\*\*バイオセーフティー管理室、\*\*\*情報センター、\*\*\*\*国際協力室]

### 3. ベトナムにおける感染症対策プロジェクト形成調査への協力

近年アジアにおいては、SARS、高病原性トリインフルエンザなどの新興感染症の出現が相次いでおり、ベトナムでは重大な健康被害が発生している。このため、わが国としてどのような協力が可能であるのか検討するために、ベトナムにおける新興再興感染症対策における課題や協力内容の妥当性についての調査を国際協力機構(JICA)によって実施されることになった。そのプロジェクト形成調査団員の一人として2005年6月17日より6月22日までベトナムにおける調査に参加し、SARS、高病原性トリインフルエンザなどの実験室診断に必要なBSL-3実験室や検査機材の設置、およびそれに伴う施設の運用や検査材料等の安全な取扱いに関する技術協力が必要であることを報告した。[板村繁之]

### 4. Vero/hSLAM細胞の分与

WHOのGlobal Specialized Laboratory(GSL)およびRegional Reference Laboratory(RRL)として麻疹ウイルス野生株分離用細胞のVero/hSLAM細胞をその求

めに応じて世界各国に分与している。本年度は、オーストラリアのVictorian Infectious Diseases Reference Laboratory(VIDRL)、香港のPublic Health Laboratory Centreの各研究機関に分与した。[菅井敏行、染谷健二、齋藤義弘\*、沼崎啓：

\*慈恵医科大学小児科]

### 5. WHO 西太平洋地域諸国における麻しんサーベイランスへの協力

日本を含めた西太平洋地域における麻しん感染者数は依然高く、1996年に策定され、2001年に改訂された麻しん対策の地域計画が推進されている。ウイルス第三部第三室は、西太平洋地域のリファレンスラボラトリーに指定され、各国より送られてきた臨床検体からのウイルス分離とその分離ウイルスの遺伝子型解析、抗麻しん抗体の検出を行っている。2005年度には15検体の解析を行い、これらの結果はそれぞれの国に還元された。[染谷健二、宮沢貴磨呂\*、菅井敏行、沼崎啓、田代真人：\*三菱化学BCL]

## 研修業務

### 1. 高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修

これまで高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術支援を行ってきたベトナムパスツール研究所から2名、インドネシア保健省国立衛生研究所から1名およびインフルエンザ株サーベイランス技術支援を行ってきたモンゴル国立感染症研究所から1名を感染研ウイルス第3部第1室に招聘して、3月1日から1ヶ月間、実験室診断技術、株サーベイランスの手法などについて技術研修を行なった。研修では、高病原性鳥インフルエンザの基礎知識の習得、感染診断系の精度管理法の習得、プライマー設計技能の習得、遺伝解析法の習得などそれぞれの研究所の現有設備を最大限に活用し、より精度の高い検査対応ができることを到達目標とした。一方、毎週末には研究室スタッフの企画による研修生との交流と国際親善が図られた。[小田切孝人、今井正樹、影山努、二宮愛、小淵正次、板村繁之、斉藤利憲、河野直子、望月菊、田代真人]

### 2. インフルエンザワクチン製造における品質管理に関する研修

台湾行政院衛生署から4名の研修員を受け入れて2005年10月11日、12日の両日インフルエンザワクチン製造に関する概要について研修を実施した。また、11月には品質管理に係わる力価試験についての研修を実施した。[小田切孝人、板村繁之、河野直子]

## 発表業績一覧

## I. 誌上発表

## 1. 欧文発表

- 1) The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network (Aubin JT, Azebi S, Balish A, Banks J, Bhat N, Bright RA, Brown I, Buchy P, Burguiere AM, Chen H, Cheng P, Cox NJ, Crosier A, Curns A, Cuvelier F, Deng G, Desheva J, Desvaux S, Diep NH, Donis RO, Douglas A, Dowell SF, Dung NT, Edwards L, Fukuda K, Garten R, Govorkova E, Gregory V, Hampson A, Hanh NTH, Harper S, Hay A, Hoffmann E, Hulse D, Imai M, Itamura S, Jadhao S, Jeannin P, Kang C, Katz J, Kim JH, Klimov A, Kwon Y, Lee C, Lien PS, Li Y, Lim W, Lin YP, Lindstrom S, Loftin L, Mabry J, Mai LQ, Maines T, Manuguerra J, Mase M, Matsuoka Y, McCarron M, Medina M, Nguyen D, Ninomiya A, Obuchi M, Odagiri T, Peiris M, Perdue ML, Reynes J, Robertson J, Rousseaux C, Saito T, Sangkitporn S, Shaw M, Simmerman JM, Slomka M, Smith C, Sorn S, Spackman E, Stohr K, Suarez DL, Sung HW, Swayne DE, Tardy-Panit M, Tashiro M, Thawatsupha P, Tumpey T, Uyeki T, Tu PV, van der Werf S, Vong S, Webby R, Webster R, Wood J, Xu X, Yi G, and Zhang W). Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 1515-1521(2005)
- 2) Ohnishi K, Sakaguchi M, Kaji T, Akagawa K, Taniyama T, Kasai M, Tsunetsugu-Yokota Y, Oshima M, Yamamoto K, Takasuka N, Hashimoto S, Ato M, Fujii H, Takahashi Y, Morikawa S, Ishii K, Sata T, Takagi H, Itamura S, Odagiri T, Miyamura T, Kurane I, Tashiro M, Kurata T, Yoshikura H, Takemori T. : Immunological detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus by monoclonal antibodies. *Jpn J Infect Dis.* 58(2): 88-94 (2005)
- 3) Sakai T, Ohuchi M, Imai M, Mizuno T, Kawasaki K, Kuroda K, and Yamashina S. :Dual wavelength imaging allows analysis of membrane fusion of influenza virus inside cells. *J Virol.* 80:2013-2018 (2006)
- 4) Gopinath SC, Misono TS, Kawasaki K, Mizuno T, Imai M, Odagiri T, and Kumar PK. :An RNA aptamer that distinguishes between closely related human influenza viruses and inhibits haemagglutinin-mediated membrane fusion. *J Gen Virol.* 87:479-487 (2006)
- 5) Imai M, Mizuno T, and Kawasaki K. :Membrane fusion by single influenza hemagglutinin trimers. Kinetic evidence from image analysis of hemagglutinin-reconstituted vesicles. *J Biol Chem.* 281:12729-35 (2006)
- 6) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Matsuyama S, Miyajima N, Taguchi F, Itamura S, Kurane I, Morikawa S. Vesicular stomatitis virus pseudotyped with severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. *J Gen Virol.* 86: 2269-2274 (2005)
- 7) Liem NT, Lim W, World Health Organization International Avian Influenza Investigation Team, Vietnam (Anh BH, Barboza P, Bhat N, Arnold Bosman A, Boqvist S, Brown R, Brudon P, Calain P, Cheng M, Curns A, Delpech V, Dietz R, Doan NC, Doran R, van Beest Holle MDR, Francart J, Fukuda K, Wolkin A, Gautier P, Hasebe F, Horby P, Itamura S, Jestin V, Mak D, Miranda N, Oshitani H, Saito T, Maines T, Saito R, Simmerman JM, Tumpey T, Uyeki T). Lack of H5N1 avian influenza transmission to hospital employees, Hanoi, 2004. *Emerg Infect Dis.* 11: 210-215 (2005)
- 8) Numazaki, K.: Human cytomegalovirus infections in premature infants by breastfeeding. *Afr. J. Biotechnol.* 4: 867-872 (2005).
- 9) Numazaki, K., Asanuma, H., Niida, Y.: Respiratory tract infections due to *Chlamydia trachomatis* in early neonatal period. In: Kishimoto, T., Yamazaki, T., Kuo, C-C., eds. Symposium on Chlamydial Infections, Proceedings of The Third Joint Auspices of Japan Society for Chlamydia Research and Department of Pathobiology, University of Washington, pp. 16-21, Life Science Co. Ltd., Tokyo, (2005).
- 10) Tanaka, K., Numazaki, K., Tsutsumi, H.: Human cytomegalovirus genetic variability in strains isolated from Japanese children during 1983-2003. *J. Med. Virol.* 76: 356-360 (2005).
- 11) Nishiyama, K., K. Takaji, K. Kataoka, Y. Kurihara, M. Yoshimura, A. Kato, H. Ogawa, and H. Kurihara. Id1 gene transfer confers angiogenic property on fully differentiated endothelial cells and contributes to therapeutic angiogenesis. *Circulation* 112:2840-2850 (2005).
- 12) Yoneyama, M., M. Kikuchi, K. Matsumoto, T. Imaizumi, M. Miyagishi, K. Taira, E. Foy, Y-M. Loo, M. Gale, Jr., S. Akira, S. Yonehara, A. Kato, and T. Fujita. Shared and Unique Functions of the DExD/H-Box Helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in Antiviral Innate Immunity. *J. Immunol.* 175(5):2851-2858 (2005).
- 13) Sakaguchi, T, A. Kato, F. Sugahara, Y. Shimazu Y, M.

## ウイルス第三部

- Inoue, K. Kiyotani, Y. Nagai, and T. Yoshida. AIP1/Alix is a binding partner of Sendai virus C protein and facilitates virus budding. *J. Virol.* 79:8933-8941 (2005).
- 14) Kubota, T., N. Yokosawa, S. Yokota, N. Fujii, M. Tashiro, and A. Kato. Mumps virus V protein antagonizes interferon without the complete degradation of STAT1. *J. Virol.* 79:4451-4459 (2005).
- 15) Saika S, M. Kidokoro, H. Kubonoya, K. Ito, T. Ohkawa, A. Aoki, N. Nagata, K. Suzuki :Development and biological properties of a new live attenuated mumps vaccine. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 29: 89-99 (2006).
- 16) Matsuyama S, Ujike M, Morikawa S, Tashiro M, and Taguchi F. Protease-mediated enhancement of SARS coronavirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* 102: 12543-12547 (2005)
- 17) Saijo M, Ogino T, Taguchi F, Fukushi S, Mizutani T, Notomi T, Kanda H, Minekawa H, Matsuyama S, Long HT, Hanh NTH, Kurane I, Tashiro M, Morikawa S. Recombinant nucleocapsid protein-based IgG enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of SARS. *J. Virol. Methods.* 125: 181-186 (2005)
- 18) Nakagaki K, Nakagaki K, and Taguchi F Receptor-independent spread of a highly neurotropic murine coronavirus JHMV from initially infected microglial cells in mixed neural culture. *J. Virol.* 79: 6102-6110. (2005)
- 19) Shirato, K., Miyoshi, H., Kariwa, H., Takashima, I. The kinetics of proinflammatory cytokines in murine peritoneal macrophages infected with envelope protein-glycosylated or non-glycosylated West Nile virus. *Virus Res.* 121: 11-16. (2006)
- 20) Ujike, M., Nakajima, K., Nobusawa, E. A point mutation at the C terminus of the cytoplasmic domain of influenza B virus hemagglutinin inhibits syncytium formation. *J. Gen. Virol.* 87: 1669-1676. (2006)
2. 和文発表
- 1) 小田切孝人: 今期のインフルエンザの動向予測と新型インフルエンザ対策 *The Medical Test Journal* 951: 6 (2005)
- 2) 板村繁之: 人における鳥インフルエンザ *獣医畜産新報* 58(10) : 865-870 (2005)
- 3) 板村繁之: 高病原性鳥インフルエンザ、感染制御 2(1) : 43-47 (2006)
- 4) 沼崎啓: 小児に多い感染症とその対策 - 当院での対応 - 8. マイコプラズマ肺炎、小児看護 28: 618-624 (2005)
- 5) 沼崎啓: 感染制御と教育、市民(親や子ども)の教育/啓蒙、コミュニケーション 麻疹根絶に向けての取り組みを中心に、小児科臨床 58: 2575-2583 (2005)
- 6) 田中香織、堤裕幸、沼崎啓: サイトメガロウイルス感染症、小児科診療 68: 2116-2121 (2005)
- 7) 沼崎啓: 冬の院内ウイルス感染対策、感染と抗菌薬 8: 413-415 (2005)
- 8) 沼崎啓 翻訳: グラム陰性菌感染症(衛藤義勝 監修. ネルソン小児科学 Nelson Textbook of Pediatrics 17th edition. 第184-192章.) エルゼビア・ジャパン、東京、944-968 (2005)
- 9) 田代真人、岡田晴恵: インフルエンザ備えあれば感染少ない、健康のひろば(1550):2-3(2005)
- 10) 岡田晴恵: 新型インフルエンザ大流行の可能性と対策 *Circles* 7(3) :3-6(2005)
- 11) 岡田晴恵: 身近に迫る感染症の脅威 金沢工業大学情報誌「Back Up」No.25 (2005)
- 12) 岡田晴恵: 麻疹風しんワクチン二回接種の導入 小児科臨床 59:7-16 (2006)
- 13) 岡田晴恵: 「感染症は世界史を動かす」ちくま新書 (2006)
- 14) 加藤篤、久保田耐: 広範囲血液・尿化学検査、免疫学的検査 ムンプスウイルス *日本臨床* 63:352-355 (2005)
- 15) 田口文広: SARS SARS コロナウイルス: 特集「動物由来ウイルス感染症」*日本臨床* 63(12):2113-2120(2005)
- 16) 田口文広: マウス肝炎ウイルスおよび SARS コロナウイルスの細胞侵入機構: 病原性発現への関与 *実験医学* 23(17):28-33 (増刊)(2005)
- . 学会発表
1. 国際学会
- 1) Odagiri T., Imai M., Ninomiya A., Minekawa H., Notomi T., Ishizaki T., Tu P.V., Tashiro M.: Development of H5-RT-LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) system for rapid diagnosis of H5 avian influenza virus infection. The Second European Influenza Conference, Malta, September, 2005
- 2) Ninomiya A., Imai M., Tashiro M., Odagiri T.: Inactivated influenza H5N1 whole-virus vaccine with aluminium adjuvant induces cross-protective immunity against lethal challenge with highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses *Vaccine The Second European Influenza*

## ウイルス第三部

- Conference, Malta, September, 2005
- 3) Odagiri T. : Strain evolution of H5N1 avian influenza from Hong Kong 1997 to Vietnam/Thailand 2004/2005. Taiwan Influenza Study Group Symposium on Influenza Pandemic. Taiwan, August, 2005.
  - 4) Odagiri T. : Selection of vaccine strain for H5N1 influenza pandemic. Taiwan Influenza Study Group Symposium on Influenza Pandemic. Taiwan, August, 2005.
  - 5) Odagiri T.: Development of H5N1 vaccine in Japan. US/Japan Cooperative Medical Science Program ARI Panel. 10<sup>th</sup> Annual Meeting, Galveston, USA, January, 2006.
  - 6) Odagiri T.: International responses of WHO influenza collaboration center in Tokyo on the outbreaks caused by highly pathogenic H5N1 avian influenza. Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infectious Diseases-2006. Tokyo, February, 2006.
  - 7) Otsuki, N., Itoh, O., Umino, Y., Tashiro, M.: Detection of bovine polyomavirus DNA in bovine serum used for cell culture and live viral vaccines available in Japan. Viral & TSE Safety Conference. Washington, D.C., USA May 16-18, 2005
  - 8) Aoki, K., Akanuma, M., Ohguchi, T., Ohno, S., Ishiko, H., Numazaki, K. Genetic and serological diversity of Chlamydia trachomatis. World Health Organization Prevention of Blindness & Deafness TTRACHOMA SCIENTIFIC WORKSHOP, Geneva, Switzerland, April 18, 2005.
  - 9) Numazaki, K. Vero/SLAM cell line. WHO/WPRO Hands-on Training/Workshop on the Laboratory Diagnosis of Measles Virus Infection., March 13-18, Hong Kong, 2006.
  - 10) Sakagushi, T., A. Kato, K. Kiyotani, Y. Nagai, T. Yoshida. AIP1/Alix is a binding partner of Sendai virus C protein and facilitates virus budding. XIII International Congress of Virology. San Francisco, CA, USA July 23-28, 2005
  - 11) Kato, A., K. Kiyotani, M. Tashiro, Y. Nagai. Sendai virus strategy to circumvent the self-limiting growth due to autocrine and paracrine interferon. XIII International Congress of Virology. San Francisco, CA, USA July 23-28, 2005
  - 12) Kidokoro, M., M. Tashiro, and H. Shida: Novel genetically stable vaccine strains constructed from vaccinia LC16m8. XIII International Congress of Virology. San Francisco, CA, USA July 23-28, 2005
  - 13) Taguchi F. Cell entry mechanism of SARS and murine coronaviruses; implication in pathogenesis. German-Japanese Symposium on Emerging and Reemerging Viruses. Toyama, Japan, May, 2005
  - 14) Taguchi F. and Matsuyama S. Protease-mediated enhancement of ARS-CoV infection. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA June, 2005
  - 15) Watanabe R. and Taguchi F. Receptor-independent infection of mouse hepatitis virus; analysis by spinoculation. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
  - 16) Nakagaki K., Nakagaki K. and Taguchi F. Receptor-independent spread of a murine coronavirus JHMV in mixed neural cell culture. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
  - 17) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S and Yamada YK. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-CoV. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
  - 18) Fukushi S, Mizutani T., Saijo M, Matsuyama S, Taguchi F, Kurane I, and Morikawa S. Pseudotyped vesicular stomatitis virus for functional analysis of SARS-CoV spike protein. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
  - 19) Ishii K., Yokota Y, Takemori T, Hasegawa H, Mizutani T, Morikawa S, Taguchi F, and Miyamura T. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
  - 20) Taguchi F. Protease-mediated enhancement of SARS-CoV infection . The 5<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Japan, September, 2005
  - 21) Watanabe R., Taguchi F Receptor-independent infection of JHMV: analysis by spinoculation. The 5<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Japan, September, 2005.
- ## 2. 国内学会
- 1) 小田切孝人: 2004/05 シーズンのインフルエンザ流行解析と次シーズンのワクチン 平成 17 年度衛生微生物技術協議会、福井市、2005 年 7 月
  - 2) 二宮愛、今井正樹、田代真人、小田切孝人: 弱毒化 H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスを用いたアルムアジュバント添加ワクチンのマウスにおける有効性の検討 第 9 回日本ワクチン学会、大阪、2005 年 10 月
  - 3) 板村繁之、小田切孝人、田代真人、駒瀬勝啓、多田善

### ウイルス第三部

- 一、後藤修郎、池田富夫 インフルエンザパンデミックワクチン開発に関わる試作モックアップワクチンの調製およびその性状 第9回日本ワクチン学会、大阪、2005年10月
- 4) 小田切孝人：高病原性鳥インフルエンザから新型インフルエンザへ 第5回日本バイオセーフティー学会、横浜、2005年11月
- 5) 一戸猛志、田村慎一、千葉丈、小田切孝人、田代真人、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹 NKT細胞活性化による粘膜免疫応答の誘導と高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するワクチンへの応用 第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月
- 6) 小淵正次、今井正樹、小田切孝人：B型インフルエンザウイルスBM2蛋白膜貫通領域の機能解析 第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月
- 7) 小田切孝人、小淵正次、影山努、板村繁之、今井正樹、二宮愛、西藤岳彦、田代真人：2004/05シーズンのインフルエンザ流行株と平成17年度のワクチン株 第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月
- 8) 二宮愛、今井正樹、田代真人、小田切孝人：2004年H5N1型高病原性鳥インフルエンザ分離株を用いたアルムアジュバント添加弱毒化ワクチンのマウスにおける有効性の検討 第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月
- 9) 小田切孝人：高病原性鳥インフルエンザの現状と新型インフルエンザ対策 第3回東海北陸ブロック健康危機管理連絡協議会、名古屋、2005年11月
- 10) 小田切孝人：高病原性鳥インフルエンザと新型インフルエンザ対策 平成17年度希少感染症診断技術研修会、国立感染症研究所、2006年2月
- 11) 今井正樹：高病原性鳥インフルエンザの実験室診断法および途上国で見た診断法の問題点 平成17年度希少感染症診断技術研修会、国立感染症研究所、2006年2月
- 12) 小田切孝人：高病原性鳥インフルエンザの流行と感染研の活動（研究活動、国際貢献） 第30回国立感染症研究所安全連絡協議会、国立感染症研究所、2006年3月
- 13) 小田切孝人：高病原性鳥インフルエンザの流行における日本の国際貢献と求められるもの 第29回インフルエンザ研究者交流会シンポジウム、仙台、2006年3月
- 14) 大槻紀之：細胞培養用ウシ血清中のウシポリオーマウイルス、第5回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム、東京、2005年12月
- 15) 沼崎啓：小児におけるマイコプラズマおよびクラミジアの病原性、東北小児感染症懇話会、特別講演、仙台、2005年4月
- 16) 沼崎啓：小児科でよくみられる呼吸器感染症の新しい話題 平成17年京都市学校医会、小児科医会学術講演会 特別講演、京都、2005年5月
- 17) 沼崎啓：小児科領域のクラミジア感染症と感染制御戦略、第19回北海道クラミジア・感染・免疫研究会 特別講演、札幌、2005年5月
- 18) 田中香織、堤裕幸、沼崎啓：妊婦の膣拭い液におけるサイトメガロウイルスのreal-time PCRを用いた検出および定量化、第46回日本臨床ウイルス学会、福岡、2005年6月
- 19) 沼崎啓：わが国の麻疹対策の現状と展望 - WHO 世界特別麻疹検査室および地域レファランス検査室の役割を中心に -、平成17年ウイルス検査技術連絡会講演、東京、2005年9月
- 20) 沼崎啓：世界から麻疹が消える日を目指して - WHO の麻疹根絶計画 - ワクチンセミナー「麻疹根絶をめざして」特別講演、苫小牧、2005年10月
- 21) 沼崎啓：小児呼吸器感染症の最近の動向と治療戦略 - マイコプラズマおよびクラミジアを中心に -、第7回浜松呼吸器感染症セミナー特別講演、浜松、2005年10月
- 22) 沼崎啓：小児期ウイルス感染症の問題点と流行期の感染防止対策シンポジウム「小児病棟で問題となるウイルス感染症とその対策」、第21回日本環境感染学会総会、東京、2006年2月
- 23) 沼崎啓：小児呼吸器感染症の新しい概念と治療戦略、平成18年相模原市医師会小児科医会総会特別講演、相模原、2006年3月
- 24) 岡田晴恵：麻疹ウイルス感染及びワクチン接種が引き起こす宿主免疫の生体機能の解析、第46回日本臨床ウイルス学会、シンポジウム、福岡、2005年6月
- 25) 岡田晴恵：「人類 vs 感染症」、TEPCO セミナー、東京、2005年6月
- 26) 岡田晴恵：大人も罹る麻疹と風疹・鳥インフルエンザの脅威、日本厚生協会、東京、2005年10月
- 27) 加藤篤、清谷克寛、久保田耐、田代真人、永井美之 センダイウイルス抗インターフェロン能力の感染に及ぼす意味、第16回日本生体防御学会学術総会、東京、2005年8月
- 28) 安井文彦、北畠正大、井上真吾、新井正明、森田公一、村井深、水野喬介、木所稔、志田壽利、松島綱治、小原道法：ワクシニアウイルスを母体としたSARSワクチンの開発、第3回日本予防医学リスクマネージメント

## ウイルス第三部

学会年次総会、東京、2005年9月

SARS ワクチンとしての検討、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005年11月

- 29) 木所稔, 田代真人 : 遺伝的安定性と免疫原性に優れた弱毒痘瘡ワクチン株の開発と B5R 遺伝子の機能、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2005年10月
- 30) 木所稔、齋加志津子、窪谷弘子、加藤篤、田代真人 ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子の同定と解析、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005年11月
- 31) 清谷克寛、坂口剛正、加藤篤、永井美之、吉田哲也 V 欠損センダイウイルスのマウス肺からの早期排除は IRF3 を介して起こる、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005年11月
- 32) 加藤篤、清谷克寛、久保田耐、田代真人、永井美之 センダイウイルス抗インターフェロン能力の感染に及ぼす意味、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005年11月
- 33) 安井文彦、北畠正大、横地祥司、井上真吾、森田公一、志田壽利、木所稔、村井深、松島綱治、小原道法 : SARS コロナウイルスの全構造蛋白質発現型組換えワクシニアウイルスによるワクチン効果の検討、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005年11月
- 34) 安井文彦、北畠正大、横地祥司、井上真吾、森田公一、志田壽利、木所稔、村井深、松島綱治、小原道法 : SARS コロナウイルスの全構造蛋白質発現型組換えワクシニアウイルスによるワクチン効果の検討、第 28 回日本分子生物学会年会、福岡、2005年12月
- 35) 渡辺理恵、田口文広 : マウス肝炎ウイルスの受容体非依存性感染に関する研究 : spinoculation 法を用いた解析、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005年11月
- 36) 松山州徳、氏家誠、森川茂、田代真人、田口文広 : プロテアーゼによる SARS コロナウイルスの感染増強、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005年11月
- 37) 中垣慶子、田口文広 : マウス肝炎ウイルス変異株 (JHM-srr7) のマウス大脳分離培養細胞への感染に関する研究、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005年11月
- 38) 白戸憲也、野田雅博、田代真人、田口文広 : Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法による Human respiratory syncytial virus (hRSV) の検出法の開発、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜 2005年11月
- 39) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、水谷哲也、森川茂、田口文広、田代真人、鈴木哲朗、宮村達男 : 高度弱毒化ワクシニアウイルス株 Dis の組換え