

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

人事異動では、平成 26 年 4 月 1 日付で第 1 室長小田切孝人がセンター長に就任した。平成 26 年 4 月 30 日から主任研究官岸田典子が育児休業に入り、平成 26 年 5 月 1 日から研究員有田知子および研究員浜本いつきが育児休業から職務復帰した。平成 26 年 5 月 31 日付で任期付研究員内藤忠相が退職、平成 26 年 9 月 30 日付で第 5 室長山本典生が退職した。平成 26 年 9 月 1 日付で渡邊真治が第 1 室長に就任した。

国際関連の人事では、平成 26 年 8 月からセンター長小田切孝人が WHO インフルエンザ協力センター長、WHO 国内インフルエンザセンター長、WHO-H5 レファランス診断研究室長、WHO 重要品質管理規制室長、にそれぞれ就任した。

平成 26 年度開始早々に熊本県の養鶏場で高病原性鳥インフルエンザ A(H5N8)ウイルスによる流行が発生した。これへの緊急対応として、発生養鶏場から採取した検体から分離したウイルスを速やかに入手し、当センターで既に構築し配布済みの PCR 診断系が本ウイルスの検出にも機能することを確認し、全国地方衛生研究所（地衛

研）に情報提供と助言を行った。

研究開発業務としては、インフルエンザウイルスサーベイランスの効率化のために PCR による B 型ウイルス系統鑑別系を構築し、各地衛研へ情報提供した。また、インフルエンザ以外の呼吸器系ウイルスの同定検査系の新規構築、単クローン抗体を用いた H5 および H7 鳥インフルエンザウイルス検出用迅速診断キットの開発を行った。

流行動向調査（サーベイランス）業務では、例年どおり地衛研、感染症疫学センターと連携して、国内で流行したインフルエンザウイルスを収集し、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 26 年度のワクチン株の選定を行った。

2013/14 シーズン前半に札幌市周辺で発生した薬剤耐性株の地域流行に際しては、その後の流行状況やウイルスの性状を医療機関へ情報提供した。また、これを踏まえて日本小児科学会から緊急に発出されたインフルエンザ治療指針改訂版の作成にも関与し適切な助言を行った。

レファランス業務としては、WHO 及び厚労省の依頼に応じて季節性及び H5N1 プレパンデミックワクチン製造株を開発・選定・供給、およびサーベイランスとワクチン製造に必要な抗原解析及び品質管理用の各種標準品の製造・配布及び技術支援を行った。また、本年度は第 2 回目となるインフルエンザ PCR 検査の外部精度管理を全国地衛研に実施し、検査精度の向上と改善への助言を行った。さらに、ウイルスサーベイランスに必須なウイルス分離技術の改善に向けたアンケート調査を全国地衛研を対象に行い、その結果に基づいて個別の助言を行った。

国際協力では、新たな WHO パンデミックインフルエ

ンザ基本構想 (PIP-Framework) に基づく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及びパンデミック緊急対応計画の再検討・改善・強化への助言・提言とその実施を担った。世界各国の分離株・臨床検体の解析、流行予測及び候補ワクチンの効果予測から、南北半球向けの WHO ワクチン推奨株をそれぞれ選定した。WHO 世界インフルエンザ行動計画に主要メンバーとして参画し、PCR 診断、薬剤耐性の各作業班、世界インフルエンザ研究計画の推進、ワクチン株選定法の改良、ワクチン品質管理、などで重要な役割を果たした。また WHO、JICA 等の依頼に応じて、海外インフルエンザセンターへの技術指導、研修を行った。WHO H5N1 指定研究室として、世界各地の高病原性 H5N1 の診断、分離、性状解析、技術支援を実施した。また、WHO 重要品質管理規制研究室として、ワクチン製造候補株の開発及び参照品の作製、国際標準化、分与及び周辺諸国への技術研修と精度管理試験等を実施した。

ワクチン品質管理業務では、ワクチン国家検定と各標準品に関するレファレンス業務を担当し、生物学的製剤基準改定への協力、標準品の開発整備、国際的品質管理体制の確立に努め、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保という NCL の責任を果たした。

新規ワクチンの実用化へ向けた研究業務としては、平成 25 年度に完成した細胞培養法による H5N1 ワクチンの製造基盤を有効活用するため、細胞培養法による季節性インフルエンザワクチンの導入と実用化に向けた研究開発と体制整備を国内ワクチンメーカー、厚労省と共同で進めた。本プロジェクトを効果的に推進するための研究開発会議体を設置し、製造用シードウイルスの作製法、安定供給戦略の企画、シードウイルスの品質確保のための試験法の確立を国内ワクチンメーカーと共同で進めた。さらに、細胞培養ワクチン候補株の国際的認定の枠組みを海外 WHO インフルエンザ協力センターと共同で策定した。

国の新型インフルエンザ体制の基本対応として制定された新型インフルエンザ等対策特別措置法、同政令の実施運用に向けての作業に協力した。

## 業績

### 調査・研究

#### I. インフルエンザウイルスに関する研究

##### 1. 抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの地域流行に関する研究

インフルエンザ A(H1N1)pdm09 の予防および治療には抗インフルエンザ薬の NA 阻害剤が用いられる。NA 蛋白に特徴的なアミノ酸変異 (H275Y) をもつ NA 阻害剤耐性ウイルスは国内外で散発的に検出されており、我々は全国地方衛生研究所と共同で、日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施し、継続的に耐性ウイルスの監視を行っている。2013 年 11 月から 2014 年 2 月にかけて札幌市を中心とした北海道内で H275Y 耐性変異をもつオセルタミビル・ペラミビル耐性ウイルスが地域流行した。北海道内で流行した耐性ウイルスは、アミノ酸変異によりヒトの間で伝播するのに十分な適合性を獲得している可能性が示唆された。[高下恵美、江島美穂、伊東玲子、三浦舞、藤崎誠一郎、中村一哉、土井輝子、佐藤彩、菅原裕美、横山勝\*、佐藤裕徳\*、小田切孝人：\*病原体ゲノム解析センター]

##### 2. RT-LAMP 法を用いた B 型インフルエンザウイルスのVictoria 系統・山形系統識別遺伝子診断系の構築

B 型インフルエンザウイルスには 80 年代後半より抗原的にも遺伝的にも異なる B/Victoria/2/87-like (Victoria 系統) と B/Yamagata/16/88-like (山形系統) の 2 系統が存在するようになり、シーズンにより流行規模は変動するが、現在も両系統が流行している。ウイルス分離を行わなくとも、検体レベルでより迅速に両系統を識別して流行状況を把握する事ができるように、TaqMan プローブを用いたリアルタイム RT-PCR 法による遺伝子診断系に加え、RT-LAMP 法による系統識別系を新たに構築した。[中内美名、高山郁代、高橋仁、影山努]

##### 3. 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管理の実施

全国 72 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核酸診断検査法(リアルタイム RT-PCR 法)についての第 2 回全国地衛研外部精度管理(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

ンケートに対して詳細な解析を行い、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個別に行い、検査精度向上に向けた改善方法などを助言した。[影山努、中内美名、高山郁代、高橋仁]

#### 4. 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ヒトパラインフルエンザウイルス（1 型、2 型、4a 型、4b 型）を選択し、RT-LAMP 法による検出系の構築を行った。その結果、今回構築を行った 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は、高感度にウイルス遺伝子を検出できることが確認された。以上の結果から、設計したプライマーセットは呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系として有用であることが示唆された。[高橋仁、高山郁代、中内美名、永田志保、改田厚\*、久保英幸\*、小田切孝人、影山努：\*大阪市立環境科学研究所]

#### 5. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H5N1 インフルエンザ迅速診断法構築の検討

感度と特異性に優れた H5 HA 特異的なモノクローナル抗体を作製し、これを用いた H5N1 インフルエンザ迅速診断法の構築を目的とした研究を行っている。H5 HA 特異的で保全性の高い領域のアミノ酸配列の選択と、そのペプチド合成を新たに行い、これを用いたマウスモノクローナル抗体の作製を行った。得られた抗体クローンは H5 HA 蛋白質を認識し、H1pdm、H3 および H7 HA 蛋白質には反応しないことが示された。この中から反応性の高い抗体クローンを選択し、そのハイブリドーマ細胞を用いてマウス腹水作製および抗体精製を行った。得られた精製抗体を標識し、サンドイッチ ELISA 系の構築を試みた。[高橋仁、高山郁代、中内美名、永田志保、小田切孝人、影山努]

#### 6. H7 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H7N9 インフルエンザ迅速診断系構築の検討

今後、パンデミックを引き起こす可能性のある

A(H7N9)インフルエンザの高感度・特異的な迅速診断系を構築することを目的とした研究を行っている。

A(H7N9)ウイルスの HA アミノ酸配列の比較を行い、H7 HA 特異的で保存性の高い領域を選び出し、そこから合成したペプチドをマウスに免疫し、モノクローナル抗体の作製を行った。得られたモノクローナル抗体クローンは H7 HA 蛋白質を認識し、H1pdm、H3 および H5 HA 蛋白質には反応しないことが示された。この中から反応性の高い抗体クローンを選択し、そのハイブリドーマ細胞を用いてマウス腹水作製および抗体精製を行った。得られた精製抗体を標識し、サンドイッチ ELISA 系の構築を試みたところ、H7 HA 蛋白質を特異的に検出可能な抗体の組み合わせが得られた。[高橋仁、中内美名、永田志保、小田切孝人、影山努]

#### 7. インフルエンザウイルスエアロゾルを定量するための antigen-capture ELISA の構築

新型インフルエンザ等の輸入・新興感染症患者を治療する際やその臨床検体を検査する際、医療従事者にとって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必要である。我が国では、日本工業規格(JIS)に防護具やその素材の病原体に対する防護性能評価試験がいくつか制定されているが、暴露形態の1つであるエアロゾル感染を想定したウイルスエアロゾルによる評価試験法が無い。この評価試験法開発の基盤として、本研究では、モデルウイルス粒子としてインフルエンザウイルス PR8 株を選択し、ウイルス粒子エアロゾルを定量するための、インフルエンザウイルス粒子の構造蛋白である M1 蛋白を標的とした antigen-capture ELISA の構築を検討した。Capture 抗体には M1 蛋白の 15 アミノ酸を抗原としたペプチド免疫モノクローナル抗体を作製して用いた。その結果、本 ELISA 系の PR8 に対する容量反応性の直線性や定量再現性は良好であることが確認され、M1 蛋白標品を用いた検量線から、検出限界は 2.5 ng/ml であることがわかった。また、感染性粒子量（ウイルス感染価）と本 ELISA 系による M1 蛋白量との間に高い相関性があることも確認された。以上から、インフルエンザウイルス粒子の M1 蛋白を定量する antigen-capture ELISA が構築できた。今後、防護服やマスクの素材に対するウイルスエアロゾル防護性能評価試

験に、本 ELISA 系が適用可能か検証する予定である。[嶋崎典子、高橋仁、影山努、浜本いつき、篠原克明\* : \*バイオセーフティ管理室]

#### 8. シクロスポリン A(CsA)およびその誘導体によるインフルエンザウイルスの増殖性に関する研究

インフルエンザ治療薬として M2 阻害剤とノイラミニダーゼ阻害剤が使用されているが、薬剤耐性ウイルスの出現による治療効果の減弱が問題となっている。そのため、薬剤耐性ウイルスにも効果を示す新規インフルエンザ治療薬を開発する必要がある。今回、CsA によるインフルエンザウイルス(PR8 株)の増殖抑制機序について解析した。CsA 存在下で PR8 株を感染した結果、シクロフィリン A、シクロフィリン B 及び P 糖蛋白質に非依存的に感染後期(集合、出芽、放出)を阻害し、ウイルスの増殖が抑制されることが示唆された。[山本典生、浜本いつき]

#### 9. 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 A/Anhui/1/2013 (Anhui 株 : H7N9) 株がマウスにおいて高い致死性を有していること、ならびに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示さないことを明らかにした。引き続き H7N9 株の病原性について明らかにするため、マウスにおける馴化後の性状の変化を検討した。Anhui 株をマウスに経鼻感染後、肺洗浄液を回収し、次のマウスに回収された肺洗浄液を経鼻投与し、肺洗浄液を回収した。これを 10 代繰り返した後、発育鶏卵で増殖したウイルスの性状解析を行った。馴化前の Anhui 株の 50%致死量値は  $10^{4.4}$  pfu/mouse だったのに対し、継代株は  $10^{1.7}$  pfu/mouse となり、継代前の株と比較しおよそ 500 倍程度の高い致死性を獲得した。また馴化株をマウスに鼻腔限局感染させた場合、継代前の株と比べ、早い時期にウイルスが肺に到達しただけでなく、ピーク時のウイルス価も有意に高いことが明らかとなった。馴化後の Anhui 株の遺伝子・アミノ酸解析を行ったところ、PA 分子に変異が認められた。このことから H7N9 株の馴化後の高い致死性に

は PA 分子の変異が関与していることが示唆された。[浅沼秀樹、相内章]

#### 10. インフルエンザウイルスに対する細胞内発現抗体の効果に関する研究

抗体は、その可変領域の抗原に対する特異性と定常領域が有するエフェクター機能により、生体防御に大きく貢献している。また、その可変領域の特異性から、通常の分子生物学的な実験においてもツールとして利用されている。インフルエンザウイルスに対する抗体を細胞内で発現させることで、ウイルス由来タンパク質の細胞内での機能解析、また細胞間でのウイルス伝播を阻止できる可能性が考えられる。そこで本研究では、インフルエンザウイルス PR8 株の HA タンパク質に対するモノクローナル抗体を細胞内に発現させ、その効果を検討することを目的とした。抗体を形成する H 鎖および L 鎖の可変領域のみを連結した一本鎖抗体 (scFv)、それぞれの変領域のみからなる VH、VL を細胞内発現抗体として発現するプラスミドを MDCK に導入し、その発現を確認した。いずれの細胞内発現抗体に関してもその発現を確認した。今後、これら細胞内発現抗体を発現する MDCK 細胞に対して PR8 株の感染を行い、ウイルス増殖を抑制するか、またその機能を検討する予定である。[相内章、佐藤充\* : \*農業生物資源研究所]

## 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

ワクチン接種により得られるヒト血清抗体の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、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、流行株に対する交差反応性を赤血球凝集抑制試験にて評価した。アメリカ、イギリスから入手したヒト血清についても同様の評価を行った。その成績は WHO インフルエンザ協力センター間で共有され、9 月と 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。[中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、菅原裕美、藤崎誠一郎、高下恵美、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]

## 2. 4 価インフルエンザワクチンの B 型 2 系統 HA 抗原量を適正に測定するための SRD 試験に関する研究

2015 年度から、B 型 2 系統(ビクトリア系統と山形系統)を含有する 4 価ワクチンが我が国にも導入されるにあたり、従来通り、一元放射免疫拡散 (SRD) 試験法によって、ワクチン力価(HA 抗原量)を正確に測定できるか、昨年度から検討してきた。その結果、株および SRD 試験抗血清によっては、B 型 2 系統の交差反応が大きく見られ、4 価ワクチンの B 型 SRD 力価が過剰測定される現象が認められた。これを解消すべく、両系統の標準抗原を混合して SRD 試験を行う方法を検討したが、株や標準抗原やワクチンによっては、3 価ワクチンを従来法で測定した値(真値)と統計学的に有意差が認められ、標準抗原を混合しても真値が得られない場合があることが判明した。また、両系統の抗原を混ぜた時にリング形成不良を起こすケースも見られ、種々の課題があることが判明した。このように、株や SRD 試薬やワクチンによって交差反応の挙動が異なるため、4 価ワクチンの SRD 試験で B 型株 HA 抗原量を適正に測定するには、各製造所のワクチンに対する抗血清や標準抗原の特性を事前検討して使用方法を決定するという手順が必要とわかった。更に、あらゆる交差反応の挙動に対応できるように、場合分けを想定した試験方法の制定(試験区分)が必要と考えられた。本検討結果は、本省の審査管理課に情報提供され、生物学的製剤基準の一部改正の資料として活用された。[嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、小田切孝人]

## 3. ワクチン力価(HA 抗原量)試験法の開発に関する研究

B 型 2 系統を含有する 4 価ワクチンについて、ワクチンの有効成分である HA 抗原量を測定する SRD 試験法によって、ワクチン力価測定が可能であるかを検証したところ、B/Wisconsin/01/2010 (BX-41A)株と B/Brisbane/60/2008 株の組み合わせの場合、各株単独では SRD 測定できたにもかかわらず、2 株混合では B/Wisconsin/01/2010(BX-41A)抗血清上でリング形成不良が起こり、SRD 測定不能となった。そこで本研究では、SRD 試験で測定不能となった B 型混合抗原について、逆

相 HPLC 法を用いて 4 価ワクチン中の B 型 2 系統の HA 含量を定量できるか検討した。その結果、B 型 2 系統の HA 蛋白の分離ピークをそれぞれ定量できることが確認され、その値は SRD 試験法の値と概ね一致した。以上から、逆相 HPLC 法が、4 価ワクチンの B 型について SRD 試験が使用できない場合の代替法になりうることが示唆された。[嶋崎典子、板村繁之]

## 4. インフルエンザワクチンの剤型による免疫応答の違いに関する研究

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される。本年度は、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、ヒト細胞株における NF- $\kappa$ B の活性化を指標に検討した。全粒子ワクチンとスプリットワクチンで有意に NF- $\kappa$ B の活性化が誘導されることが確認できた。さらに NF- $\kappa$ B の活性化の程度とマウスにおける抗体産生誘導能に相関が有ることが確認された。同時にこの系を用いることにより、細胞傷害活性を測定することも可能であることから、ワクチンの免疫原性を評価する上で有用なシステムとなりうることを期待される。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之、小田切孝人]

## 5. インフルエンザワクチンの新規免疫原性解析法の開発

インフルエンザワクチンの免疫応答を抗体遺伝子のレパトアおよび抗体誘導の量的、質的差異について網羅的に解析するために、次世代シーケンサーを用いて手法の確立を行った。これまでに、誘導されてくる抗体遺伝子のレパトアが詳細に解析されているハプテン・キャリアをモデルとして解析を実施したところ、既知の抗体遺伝子のレパトアが使用されていることを見出すことができた。解析手法について確立することができたので、次に、鶏卵馴化したワクチン株で製造したワクチンが馴化を受けていないワクチン株で製造したワクチンとの間で、抗体レパトアの観点からどのような違いが認められるか検討した。その結果、それぞれのワクチンに特徴的なレパトアを検出することができた。検出できたレパトアが実際にワクチンのどの成分と反応するのかを遺伝子

配列から人工合成した抗体遺伝子を発現させて検証を行っている。 [河野直子、大西和夫\*、藤 博幸\*\*、板村繁之：\*免疫部、\*\*関西学院大・理工学部]

#### 6. 細胞培養ワクチン株作製用母体ウイルスベクターの開発とその応用

現在、鶏卵培養ワクチン種株作製用の高増殖母体ウイルスベクターは開発されているが、実用化に適した細胞培養ワクチン種株作製用母体ウイルスの開発はされていない。昨年度、NIID-MDCK 細胞（無血清培地に馴化し、品質管理された MDCK 細胞）で約  $10^9$  pfu/mL の高いウイルス力価を示す PR8 株 (hg-PR8) を開発したので、このウイルスを母体ウイルスの候補株とし、リアソータントウイルス (H7N9) を作出して、hg-PR8 のワクチン株開発における有用性を検討した。Reverse Genetics 法により、HA、NA 遺伝子が A/Anhui/1/2013(H7N9)株由来、残りの遺伝子が hg-PR8 株由来のリアソータントウイルス NIIDRG-10.1C と NIIDRG-10C を作出した(NIIDRG-10C と NIIDRG-10.1C は、HA 上に 1 アミノ酸の相違がある)。NIIDRG-10.1C のウイルス力価は  $10^8$  pfu/mL、NIIDRG-10C のウイルス力価は  $10^7$  pfu/mL とどちらも高いウイルス力価を維持していた。HI 試験により各ウイルスの抗原解析を行った結果 A/Anhui/1/2013 (H7N9)株に対するフェレット感染血清の血球凝集阻止(HI)価は、NIIDRG-10.1C および NIIDRG-10C のいずれの株に対しても、A/Anhui/1/2013 に対する HI 価と同程度で、その差は 2 倍以内であった。細胞でのウイルス蛋白収量を測定した結果、今回作出したリアソータントウイルスは、各ウイルスの HA、NA と同じ配列を有する鶏卵培養用リアソータントウイルスよりも 1.5~2 倍高いタンパク収量を示した。今回開発した hg-PR8 が、細胞培養ワクチンの母体ウイルスとして有用であることが確認できた。 [鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

#### 7. 季節性細胞培養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に細胞培養ワクチンを導入するためには、克服すべき課題として以前から指摘されていた下記課題がある。[(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.(3) 細胞培養ワクチン製造株の指定法の確立.] そこで、(1)(2)の課題に取り組むため「細胞培養ワクチン開発研究会」を厚生労働省核感染症課及びワクチン製造所とともに立ち上げた。課題(1)への対応として、感染研からワクチン製造所へのワクチン種株開発用ウイルスの分与を行い、各ワクチン製造所社は、各所社保有細胞でのワクチン製造株候補開発を開始した（詳細は別記）。課題(3)は、細胞培養ワクチンのみならず、今後、導入が検討されている新規インフルエンザワクチンの製造株指定法も合わせて確立する必要があるため、「第一回季節性インフルエンザワクチン製造株の指定法に関するワーキンググループ会議」を開催し、検討を行った。本取り組みに関しては、第 9 回厚生科学審議会（予防接種・ワクチン分科会 研究開発及び生産流通部会）で、報告しており、引き続き、進捗状況の報告は本審議会でも報告する予定である。 [信澤枝里、山本典生、小田切孝人]

#### 8. 細胞培養法による NIID-MDCK 細胞からのウイルス分離効率の解析

一定の品質試験（ICH Q5A, ICH Q5D）に合格した MDCK 細胞株(NIID-MDCK)を用いて、2010/2011 及び 2011/2012 シーズンの臨床検体から、A/H1N1pdm09、A/H3N2、B/Victoria 系統、B/Yamagata 系統ウイルスの分離を行う際の効率を検討し、NIID-MDCK 細胞のウイルス分離用基材としての有用性を評価した。その結果、比較対照として用いた通常の MDCK 細胞株(MDCK-Conv) と同等の高いウイルス分離効率を示し、ウイルス分離用基材としての有用性が示された。 [浜本いつき、原田勇一、高橋仁、小田切孝人、山本典生、信澤枝里]

#### 9. 細胞培養法による分離ウイルスの遺伝的安定性についての解析

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、ワクチン製造の元株となるウイルスの遺伝的安定性の評価を行った。NIID-MDCK 細胞を用いて臨床検体から分離継代したウイルス株の HA と NA の遺伝子解析を行った結果、A/H1N1pdm 株の一部で HA の抗原領域近傍に、また、A/H3N2 株の一部で NA の HA 活性に関わるとされる部位に変異が確認された。B 型株では特徴的

な変異はみられなかった。NIID-MDCK 細胞を用いて分離継代したウイルス株の中には遺伝的安定性が保持されにくい株も存在したため、その株で生じた変異が抗原性に及ぼす影響を、今後、検討する [高橋仁、原田勇一、浜本いつき、小田切孝人、山本典生、信澤枝里]

#### 10. 細胞培養法により分離されたウイルスの抗原的安定性についての解析

NIID-MDCK 細胞から分離したウイルスについて、抗原性解析を行った。ウイルス分離に用いた臨床検体が採取されたシーズンの「基準ウイルス」と分離ウイルスの抗原性の比較を行った。その結果、(H1N1)pdm09 及び B 型の分離ウイルスは、基準ウイルスと類似の抗原性を示した。一方、A(H3N2)分離ウイルスの一部は、「基準ウイルス」とは、異なる抗原性を示した。今後、抗原的に安定なウイルスの分離法を検討する必要がある。 [原田勇一、高橋仁、浜本いつき、山本典生、小田切孝人、信澤枝里]

#### 11. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究

細胞培養ワクチン用シードウイルスの安全性を確保することを目的として、迷入ウイルス検出系の確立に関する研究を行った。シードウイルスへの混入の可能性が高いウイルス及びヒトに病気を引き起こす可能性が高い呼吸器系ウイルスを選択し、これらに対する定量 PCR 用のプライマー・プローブとスタンダード用核酸を構築した。これによって迷入ウイルス否定試験の基盤形成を進めた。

[浜本いつき、高橋仁、原田勇一、小田切孝人、山本典生、信澤枝里]

#### 12. 細胞培養インフルエンザワクチン種株選定のための評価基準構築に関する研究

本研究は細胞培養法を用いてインフルエンザワクチンを製造する場合の種株の選定基準を構築することを目的としている。昨年度までに臨床検体から分離・継代した H3N2 株の中から、リファレンス株と類似の 6 株 (N273、N284、N316、N321、N337、N382) に対するフェレット感染抗血清を作製し、抗原性の認識に関する解析 (HI 試験) を行ったところ、これら 6 株はリファレンス株の類似株であるにも関わらず、各株の抗血清を用いた場合

には、必ずしも 2-way での抗原性の認識は一致しなかった。また同時期に分離されたリファレンス株との類似株に対する抗原性の認識パターンが異なっていた。それに加え、各株におけるホモ値にもバラつきが認められた。引き続きこれら 6 株のうち 3 株 (N273、N316、N337) の不活化抗原を作製し、フェレット抗血清を作製し、感染血清と同様に抗原性の認識に関する解析 (HI 試験) を行った。その結果、抗血清の臨床分離株に対する認識パターンは感染抗血清と類似していた。以上の結果は不活化抗原による免疫誘導能は、ウイルスの感染免疫による抗体誘導のパターンから予測できることが示唆された。 [浅沼秀樹、相内章、佐藤佳代子、岸田典子、許斐奈美\*、湯浅徳行\*\*、山口陽子\*\*\* : \*日本大学・医、\*\*東京化成工業、\*\*\*東海大学]

#### 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/Victoria 系統、B/Yamagata 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、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、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、渡邊真治、小田切孝人]

##### 2. フェレット抗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/Victoria(細胞株)系統、B/Yamagata(細胞株)系統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 15 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 (中国、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。[中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、渡邊真治、小田切孝人]

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

衛生微生物技術協議会感染症部会から推薦された全国6 地方ブロック代表地衛研およびそれらを支援する5 つの地衛研からなる、インフルエンザ株サーベイランスコア・サポート地衛研と感染研インフルエンザウイルス研究センターとの検査・サーベイランス技術開発共同研究体制が稼働5 年目を迎えた。今年度は、全国72 ヶ所の地衛研を対象にしたインフルエンザウイルス核酸診断検査法についての第2 回全国地衛研外部精度管理(EQA) 実施した。また、全国地衛研におけるインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点の把握を目的としたアンケート調査結果に基づき、ウイルス分離効率が低いと思われた一部の地衛研と電話による情報交換、効率改善の助言を行った。[小田切孝人、影山努、今井正樹\*、渡邊真治、高下恵美、中内美名、高山郁代、高橋仁、皆川洋子\*\*、安井善宏\*\*、長野秀樹\*\*\*、高橋雅輝\*\*\*\*、川上千春\*\*\*\*\*、林志直\*\*\*\*\*、滝沢剛則\*\*\*\*\*、加瀬哲男\*\*\*\*\*、岡山文香\*\*\*\*\*、千々和勝己\*\*\*\*\*、山下育孝\*\*\*\*\*、喜屋武尚子\*\*\*\*\*；\*岩手大学、\*\*愛知県衛生研究所、\*\*\*北海道衛生研究所、\*\*\*\*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. インフルエン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/California/7/2009(X-179A)(H1N1)pdm09、A/New York/39/2012(X-233A)(H3N2)、B/Brisbane/60/2008(BX-35)-cell derived、

B/Brisbane/60/2008、

A/Shanghai/2/2013(H7N9)-PR8-IDCDC-RG32A 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、嶋崎典子、板村繁之、小田切孝人]

### 5. 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26 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/New York/39/2012 (X-233A) (H3N2)、B/Massachusetts/02/2012(BX-51B)の3 株について国家検定の力価試験に使用する参照抗インフルエンザ HA 抗血清と標準インフルエンザ HA 抗原(一元放射免疫拡散試験用)を作製し、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量、及び参照抗血清の至適濃度の設定を実施し、本年度国内標準品として制定した。[嶋崎典子、原田勇一、河野直子、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人]

### 6. 沈降インフルエンザワクチン(H5N1 株)の国家検定のための標準抗原・参照抗血清の作製

国家備蓄用の沈降インフルエンザワクチン(H5N1 株)のワクチン製造株である A/bar-headed goose/Qinghai lake/1a/05(SJ163222)(H5N1)、A/Viet Nam/1194/2004 (NIBRG-14)(H5N1) 、A/Indonesia/05/2005 (Indo05/PR8-RG2) (H5N1)、A/Anhui/01/2005 (Anhui01/PR8-RG5) (H5N1)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。[嶋崎典子、原田勇一、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人]

### 7. 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。[嶋崎典子、高橋仁、鈴木康司、板村繁之、小田切孝人]

## サーベイランス業務

### 1. 2014/15 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 は 25 株、A(H3N2)は 350 株、B/Yamagata 系統 210 株、B/Victoria 系統は 35 株について赤血球凝集抑制試験により抗原性解析を行った。2014/15 シーズンは A(H3N2)ウイルスの流行が先行し、流行株の大半を占めたが、2015 年 3 月期には B 型ウイルスの流行も拡大した。B 型ウイルス流行の割合は 9:1 で Yamagata 系統株が Victoria 系統株よりも大勢を占めた。A(H1N1)pdm09 分離株は少数であり、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/New York/39/2012 と抗原的に異なる株が支配的に流行し、ワクチン株変更の必要性が示唆された。B/Yamagata 系統流行株についてはワクチン株 B/Massachusetts/02/12 と抗原類似性を示していたが、遺伝学的、抗原的に新規ワクチン候補株である B/Phuket/3073/2013 により近い傾向が認められた。B/Victoria 系統流行株のほぼ全てはワクチン株 B/Brisbane/60/08 と抗原的に類似していた。[中村一哉、佐藤彩、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、江島美穂、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

### 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 257 株 (台湾 34 株、ミャンマー 9 株、ラオス 108 株、ネパール 95 株、モンゴル 2 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)ウイルスの多くは 2013/14 シーズンワクチン株 A/Texas/50/2012 あるいは 2014/15 シーズンワクチン株 A/New York/39/2012 と抗原性の乖離が認められた。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、前者は B/Brisbane/60/2008 類似株が、後者は

B/Massachusetts/02/2012 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、佐藤彩、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、江島美穂、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

### 3. 2014/15 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。このため、現在流行している A(H1N1)pdm09 亜型、A(H3N2)亜型、B 型分離株について、全国地衛研の協力の元に、HA 及び NA 遺伝子の系統樹解析を行っている。14/15 シーズンに流行の主流であった A(H3N2)亜型は主に、HA 遺伝子系統樹上でクレード 3C.2a (N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H) と 3C.3a (A138S, F159S, N225D) に分かれて 2 つの集団を形成した。3C.2a および 3C.3a に属するウイルスは、昨シーズンまでに検出されていた 3C.2 および 3C.3 (代表株: A/New York/39/2012 ワクチン株) に属するウイルスとは抗原性が異なっていた。A(H1N1)pdm09 亜型は、HA 遺伝子系統樹上でクレード 6 (D97N, K283E, E499K) 内のサブクレード 6B(K163Q, A256T)に属した。B 型では、山形系統の主流はクレード 3 (S150I, N165Y, S229D)であり、B/Massachusetts/02/2012 株に代表されるクレード 2 (R48K, P108A, T181A, S229G)とは異なる集団であった。ビクトリア系統は全て 2011/12 シーズンのワクチン株 B/Brisbane/60/2008 に代表されるクレード 1A(N75K, N165K, S172P)に属した。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。[藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、高下恵美、菅原裕美、江島美穂、佐藤彩、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

### 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。平成

26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411株、A(H3N2)分離株374株、B型分離株354株の薬剤感受性を解析した。その結果、H275Y耐性変異をもつオセルタミビル・ペラミビル耐性ウイルスが札幌市を中心とする北海道内で地域流行を起こしたことを明らかにした。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、江島美穂、小川理恵、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、菅原裕美、佐藤彩、渡邊真治、小田切孝人]

#### 5. 株サーベイランス体制の強化に関する研究

平成25年度に行った地方衛生研究所（地衛研）におけるインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点の把握のためのアンケート調査の結果から、過去の3シーズン（2010/11、2011/12、2012/13）におけるインフルエンザウイルスの分離効率が3シーズン連続して低かった研究機関に対し、個別の聞き取り調査を実施、問題点の確認、改善方法等についての助言を行った。分離効率の低い原因の一つに、担当職員の交代の際の引継ぎに必要な期間を設定できず、ウイルス分離・検査の知識・技能を持たない職員が検査を実施したことが挙げられた。また、感染研主催の技術研修会開催の要望は高いが、自己負担での参加は困難であることも判明した。我が国の株サーベイランス体制を維持するためには、人材育成が不可欠である。国-地方自治体-感染研が連携して、この問題に取り組む必要がある。[今井正樹\*、渡邊真治、小田切孝人：\*岩手大学]

#### 6. 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する目的で、今年度は全国3カ所の地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査を行ったが、いずれの地方衛生研究所からも分離報告はなかった。[高山郁代、中内美名、影山努]

#### 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11カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液をMDCK細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行った。本年度は、1件2株のA型インフルエンザウイルスが分離され、これらの分離株について全セグメントの遺伝子解析を行った結果、1株は、A(H1N1)pdm09ウイルスとA(H1N2)ブタインフルエンザウイルスの混合ウイルスである事が判明した。また、もう1株は、HA遺伝子はA/H1亜型ブタインフルエンザウイルス、NA遺伝子はA(H1N2)ブタインフルエンザウイルス、その他の遺伝子はA(H1N1)pdm09ウイルスに由来することがウイルス遺伝子の詳細解析により明らかとなり、由来の異なる3種類のウイルスの遺伝子再集合により出現したウイルスと考えられた。[高山郁代、中内美名、影山努]

#### 8. 日本で分離されたH5N8高病原性トリインフルエンザウイルスの入手及び増殖

2014年4月に熊本県で高病原性鳥インフルエンザ（H5N8）によるアウトブレイクが発生した。病鳥から分離されたA/chicken/Kumamoto1-7/2014（H5N8）を動物衛生研究所より入手し、検査系確立に供すると同時に、ウイルスの増殖を行い、フェレット抗血清作製に供した。[鈴木康司、有田知子、信澤枝里、高山郁代、中内美名、影山努、小田切孝人]

#### 9. 日本においてニワトリから分離されたA(H5N8)高病原性鳥インフルエンザウイルスの抗原解析

H5N8型高病原性鳥インフルエンザウイルス

(A/chicken/Kumamoto/1-7/2014 (H5N8))の抗原解析を行った。当該ウイルスは、遺伝子配列上は、クレード 2.3.4 に属する。しかし、当該クレードウイルスに対するフェレット抗血清を用いての HI 試験では、ホモ価から 8 倍以上離れており、抗原性が異なることが示された。そこで、新たに当該ウイルスに対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を行った。その結果、同クレード(既存の 2.3.4 クレード)および異クレードのいずれの株との反応性もホモ価から 16 倍以上離れていることが明らかとなった。

作製したフェレット抗血清は、米国 St. Jude Children's Research Hosp. USCDC にも分与し、当該ウイルスの抗原解析に用いられた。[有田知子、鈴木康司、白倉雅之、相内章、浅沼秀樹、信澤枝里、小田切孝人]

#### 10. 2014 年台湾で分離された H7N9 ウイルスの抗原解析

A/Taiwan/1/2014(H7N9)と A/Taiwan/2/2014(H7N9)の HI 試験を行った。2013 年に中国で分離された A/Anhui/1/2013(H7N9)および、それを元に作製したワクチン株 A/Anhui/1/2013(H7N9)(NIIDRG-10.1)、A/Shanghai/1/2013 のいずれに対するフェレット抗血清は、台湾で新たに分離された 2 株とよく反応し、HI 価は、ホモ価から 4 倍以内であり、大きな抗原変異はおきていないことが示唆された。 [有田知子、鈴木康司、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

2015/2016 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、マスターストックおよびワーキングストックを増殖後、保存した[IVR-175、IVR-178、X-247、NIB-88、A/Switzerland/9715293/2013、A/New Caledonia/71/2014、A/Canberra/82/2014 (H3N2 亜型) , BX-53C、B/Texas/02/2013 (B 型) ]。ワクチン製造所で増殖性、蛋白収量等の検討を行うため、H3N2 亜型 3 株、B 型 2 株を試験交付、A 型 H3N2 亜型 7 株、B 型 4 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、2015/16 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]

#### 2. H26 年度 H5N1 備蓄ワクチン株選定資料の作成

(i) H26 年度に使用期限が切れるクレード 2.3.4 の H5N1 備蓄ワクチンの更新について

備蓄株 A/Anhui/01/2005(H5N1)(IBCDC-RG5)および、同株を HA の開裂部位上流に同義置換を挿入し病原性復帰の可能性を低減した株である A/Anhui/01/2005 (H5N1) (IBCDC-RG6)を新たに備蓄するかを検討するための選定資料を作成した。IBCDC-RG5 については臨床試験でワクチン接種前後(接種前、2 回目接種後 21 日目)の血清が採取してあり、接種ワクチン株に対する中和試験 (NT) 結果が提供された。そこで、これら血清のうち接種後の NT 値の高い血清を選んで IBCDC-RG5 および IBCDC-RG6 に対する抗体価を調べた。IBCDC-RG5 ワクチン接種者血清の IBCDC-RG6 に対する HI 価と、ホモである IBCDC-RG5 に対する HI 価がほぼ同じであったため、IBCDC-RG5 と IBCDC-RG6 の抗原性は、ほぼ一致していると考えられた。IBCDC-RG6 を用いての臨床試験は行われていなかったことと両株の抗原性が一致していることが確認されたことから、IBCDC-RG5 の再備蓄が決定された。 [有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

(ii) 備蓄 H5N1 ワクチン接種後の交差反応性の検討

これまで H5N1 備蓄ワクチン製造用として、4 クレードに属する H5N1 ワクチン株[ベトナム株(clade 1)、インドネシア株(clade 2.1.3.2)、チンハイ株(clade 2.1)、アンフイ株(clade 2.3.4)]が、用いられてきた。従来、備蓄株の選定のため既存の備蓄ワクチン候補株を接種した血清(接種前、2 回目接種後 21 日目)を用いて、同クレードの近年の流行株(ワクチン株)への反応性を検討してきたが、他クレードの株への交差反応性は検討していなかった。同クレードのみならず他クレードの近年の分離株に対して高い中和抗体価を誘導できる備蓄ワクチン候補株が見いだせれば、より効率的なワクチンの備蓄が可能になる。そこで、既存の H5N1 ワクチン株の交差反応性抗体誘導能を調べることを目的とし、既存の H5N1 ワクチン接種者の臨床試験で得られた血清 (クレード 1 の A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (NIBRG-14)、クレード 2.1.3.2 の A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (CDC-RG2)、クレード

ド 2.2 の A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRJG-163222)、クレード 2.3.4 の A/Anhui/1/2005 (H5N1) (IBCDRC-RG5)接種者血清) を用いて他クレードの近年の流行株 (クレード 1.1 の A/Vietnam/VP13-28H/2013

(H5N1)、クレード 2.3.2.1 の

A/Indonesia/NIHRD12379/2012 (H5N1)、クレード 2.2.1 の A/Egypt/N03072/2010 (H5N1) (IDCDC -RG29)、クレード 2.3.4.2 の A/chicken/Bangladesh/11rs 1984-30/2011

(H5N1)(IDCDC-RG36)、クレード 2.3.2.1 の A/chicken/Shimane/1/2010 (H5N1) との交差反応性の有無を検討した。

各ワクチン接種群のうち、ホモ価 40 以上の中和抗体価を示すワクチン接種後血清(post 血清)を用いたにも拘らず、近年分離/開発された供試ウイルス (野生株/ワクチン株) に対して低い中和抗体価を示すものがあった。

NIBRG-14 接種者の post 血清は同クレードの A/Vietnam/VP13-28H/2013 に中和活性をほとんど示さなかった。20%が SJRG-163222 に、62%が IDCDC-RG29 に、8%が IBCDC-RG5 に対して 40 以上の中和抗体価を有した。

CDC-RG2 接種者 post 血清の 21%が同クレードの A/Indonesia/NIHRD12379/2012 に、15%が SJRG-163222 に、79%が IDCDC-RG29 に、32%が IBCDC-RG5 に、17%が IDCDC-RG36 に対して 40 以上の中和抗体価を有した。

SJRJG-163222 接種者 post 血清の 90%が同クレードの IDCDC-RG29 に、10%が IBCDC-RG5 に対して 40 以上の中和抗体価を示した。

IBCDRC-RG5 接種者の post 血清のうち 4%が同クレードの IDCDC-RG36 に、8%が A/Indonesia/NIHRD12379/2012 に、54%が IDCDC-RG29 に対して 40 以上の中和抗体を有した。

現行の備蓄ワクチンそれぞれ単独ではクレードを超え幅広い中和抗体を誘導することは期待できないことが示された。また、ワクチンが備蓄されていないクレードであるクレード 2.3.2.1 の A/chicken/Shimane/1/2010 に対して、40 以上の中和抗体価を示す血清は、高々 1%であった。 [有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

(iii) (i)の資料作成に際し、検討株をワクチン製造用種株候補として扱うため、一部の法律の適用除外、またウ

イルスの製造所への分与に必要な手続き及び手続きの一部変更を下記のように行った。1. 感染症法に基づく特定病原体からの除外の申請 (厚労省) 2. ナチュラルオカレンス株としての承認申請 3. 家伝法の家畜伝染病病原体からの除外申請。 [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試験の測定精度が一定の範囲内にあるように毎年確認して調整する必要がある。また、マウス白血球数減少試験や蛋白質含量試験において生物製剤基準の許容範囲の上限に近いために、毎年のワクチンが規格に適合しているのか確認する必要がある。そこで、本年も各ワクチン製造所で試作されたワクチンについて測定を実施して規格に適合していることを確認するとともに、各製造所の測定値との乖離について検討した。さらに参照インフルエンザ HA ワクチンを使用して各試験の測定精度についての検討を実施した。 [嶋崎典子、原田勇一、河野直子、高橋仁、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. 新規インフルエンザワクチンの承認前検査の実施

製造販売承認申請のあった乳濁細胞培養インフルエンザ HA ワクチン (プロトタイプ) について、承認前検査として当該製剤の書面審査を実施した。 [原田勇一、板村繁之、小田切孝人]

3. 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

2014-15 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 2 株、B 型 2 株の試験交付株、A(H3N2)亜型 10 株、B 型 2 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・抗原的にワクチン製造用株としての適性を確認した。また、ワクチン製造用株として作製、保存したウイルス

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. 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、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、江島美穂、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

### 2. 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、世界規模の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス実施に向けた指針の更新作業を行った。指針は世界各国の WHO ナショナルインフルエンザセンターにおいて抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施する際の基本方針となるもので WHO ウェブサイトにおいて公開された。[高下恵美]

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

9月と2月に WHO ジェ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。[小田切孝人、渡邊真治、中村一哉、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、小川理恵]

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

インフルエンザウイルスの国際データベース (GISAID) は、2006年8月に構築・公開されたデータベースであり、ヒト及び鳥インフルエンザウイルスについての情報を各国の研究者に無償で提供することを目的としている。感染研を含め各国の GISAID 技術者が GISAID 利用上の問題点、要望などを定期的に提示し、これに基づいて順次、GISAID 機能のアップデートが進められている。[藤崎誠一郎、高下恵美、渡邊真治、小田切孝人]

### 5. 西太平洋地域諸国に対するインフルエンザウイルス遺伝子解析方法トレーニングプログラムへの参画

平成26年10月22日から10月25日の期間にシンガポールにて開催された「2nd GISAID Symposium & Training Workshop」にインストラクターとして参加した。GISAID 主催の本トレーニングにて、インフルエンザウイルスの遺伝子系統樹解析法を WHO/西太平洋地域諸国のインフルエンザウイルス解析担当者に指導した。[藤崎誠一郎]

### 6. ベトナム・パスツール研究所 (ホーチミン) 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・パスツール研究所 (ホーチミン) にて、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、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、遺伝子解析など) の実技指導を行った。またベトナムにおけるインフルエンザウイルスの発生状況について情報提供を受け、議論した。[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 A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールに関する Working Group Meeting への参加

平成 26 年 6 月 23 日～24 日にジュネーブで開催された WHO A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールに関する Working Group Meeting に参加し、WHO の A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールのアップデートについてと諸外国のナショナルインフルエンザセンターに対して行っているインフルエンザウイルスの PCR 亜型診断の精度管理およびその継続性について、他の WHO インフルエンザ協力センター、WHO H5 リファレンスラボラトリー、ナショナルインフルエンザセンター、OFFLU と協議した。[影山 努]

#### 9. 重症化 A(H1N1)pdm09 感染疑い患者のインフルエンザウイルスの遺伝子検査

重症化した A(H1N1)pdm09 感染疑い患者から採取された 50 臨床検体がネパール NIC より送付された。送付された検体に対しては、インフルエンザウイルスの遺伝子検査を行った。[影山努、高山郁代、中内美名、高橋仁、小田切孝人]

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

ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)において国際協力機構(JICA)が実施している BSL3 実験室の供与と技術移転のプロジェクトに参加し、NIHE 及び地域研究所(ホーチミン・パスツール研究所、ニャチャン・パスツール研究所、タイグエン衛生疫学研究所)の職員を対象とした研修会「Influenza virus training course in Ho Chi Minh Pasteur Institute (2014 年 7 月 23 日～25 日)」をホーチミン・パスツール研究所において開催し、インフルエンザウイルスの分離培養に関連する培養細胞の維持管理、細胞培養法によるインフルエンザウイルス分離法、発育鶏卵を用いたインフルエンザウイルスの分離および赤血球凝集素反応法によるインフルエンザウイルスの HA 価測定方法について講義および実技指導を行った。[影山努]

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

モンゴル NIC において、これまで当センターで構築した遺伝子検査法の技術供与を行った。[中内美名]

#### 12. 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行政機能強化」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]

#### 13. 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 1 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]

#### 14. 細胞培養ワクチン用種ウイルスの製造に関する国際的枠組みの構築に関する業務

現在、世界的に季節性インフルエンザワクチン製造に使用できる培養細胞由来ワクチン種ウイルス推奨株は存在しないが、日本国内での細胞培養季節性インフルエンザワクチン実用化のためには、種株選定法確立が必要である。そこで、WHO インフルエンザ研究協力センターにおいて、他国のセンターとも協調しつつ、培養細胞由来ワクチン種ウイルス株推奨の国際的な枠組み作りに取り組んでいる。[信澤枝里、高橋仁、浜本いつき、原田勇一、山本典生、小田切孝人]

### 研修業務

#### 1. 平成 26 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 26 年 10 月 10 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。[中村一哉、佐藤彩、白倉雅之、藤崎誠一郎、菅原裕美、渡邊真治、小田切孝人]

#### 2. 平成 26 年度医師卒後臨床研修プログラムにおける講義

平成 26 年 10 月 24 日に実施された H26 年度の医師卒業研修にて、インフルエンザの講義を担当した。[渡邊真治]

### 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 13 ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、リアルタイム RT-PCR 検査を中心とした A 型インフルエンザウイルスの亜型同定法およびマーカー入陽性コントロール導入を始めとした検査における精度管理に関する診断検査技術研修を行った。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。また、検疫所における鳥インフルエンザ検査マニュアルの改訂を行った。[影山努、高山郁代、中内美名]

### 4. インフルエンザの実験室診断についての研修

アイルランガ大学熱帯病研究所(インドネシア スラバヤ市)から研究員 1 名を平成 26 年 12 月 8 日から 19 日まで受け入れ、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った。[影山努、高山郁代、中内美名]

### 5. インフルエンザ診断に関する技術指導

ベトナムハノイ小児病院において、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について技術指導を行った。[影山努]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

1) Watanabe T, Zhong G, Russell CA, Nakajima N, Hatta M, Hanson A, McBride R, Burke DF, Takahashi K, Fukuyama S, Tomita Y, Maher EA, Watanabe S, Imai M, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Smith DJ, Kawaoka Y. Circulating avian influenza viruses closely related to the 1918 virus have pandemic potential. *Cell Host Microbe* 15:692-705, 2014.

2) Katsura H, Piao Z, Iwatsuki-Horimoto K, Akeda Y, Watanabe S, Horimoto T, Oishi K, Kawaoka Y. A bivalent vaccine based on a replication-incompetent influenza virus protects against *Streptococcus pneumoniae* and influenza virus infection. *J Virol* 88:13410-13417, 2014.

3) Watanabe T, Watanabe S, Maher EA, Neumann G, Kawaoka Y. Pandemic potential of avian influenza A (H7N9) viruses. *Trends Microbiol* 22:623-631, 2014.

4) Watanabe T, Kawakami E, Shoemaker JE, Lopes TJ, Matsuoka Y, Tomita Y, Kozuka-Hata H, Gorai T, Kuwahara T, Takeda E, Nagata A, Takano R, Kiso M, Yamashita M, Sakai-Tagawa Y, Katsura H, Nonaka N, Fujii H, Fujii K, Sugita Y, Noda T, Goto H, Fukuyama S, Watanabe S, Neumann G, Oyama M, Kitano H, Kawaoka Y. Influenza virus-host interactome screen as a platform for antiviral drug development. *Cell Host Microbe* 16:795-805, 2014.

5) Schultz-Cherry S, Webby RJ, Webster RG, Kelso A, Barr IG, McCauley JW, Daniels RS, Wang D, Shu Y, Nobusawa E, Itamura S, Tashiro M, Harada Y, Watanabe S, Odagiri T, Ye Z, Grohmann G, Harvey R, Engelhardt O, Smith D, Hamilton K, Claes F, Dauphin G. Influenza gain-of-function experiments: their role in vaccine virus recommendation and pandemic preparedness. *MBio* 5:e02430-14, 2014.

6) Meijer A, Rebelo-de-Andrade H, Correia V, Besselaar T, Drager-Dayal R, Fry A, Gregory V, Gubareva L, Kageyama T, Lackenby A, Lo J, Odagiri T, Pereyaslov D, Siqueira MM, Takashita E, Tashiro M, Wang D, Wong S, Zhang W, Daniels RS, Hurt AC. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2012-2013. *Antiviral Res.* 110:31-41, 2014

7) Takayama I, Takahashi H, Nakauchi M, Nagata S, Tashiro M, Kageyama T. Development of a diagnostic system for novel influenza A(H7N9) virus using real-time

RT-PCR assay in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2014 Nov 25.

[Epub ahead of print]

- 8) Tsunetsugu-Yokota Y, Nishimura K, Misawa S, Kobayashi-Ishihara M, Takahashi H, Takayama I, Ohnishi K, Itamura S, Nguyen LK H, Le TQ M, Dang T G, Nguyen T L, Tashiro M, Kageyama T. Development of a sensitive novel diagnostic kit for the highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus. *BMC Infect Dis.* 14:362, 2014.
- 9) Kobayashi-Ishihara M, Takahashi H, Ohnishi K, Nishimura K, Terahara K, Ato M, Itamura S, Kageyama T, Tsunetsugu-Yokota Y. Broad cross-reactive epitopes of the H5N1 influenza virus identified by murine antibodies against the A/Vietnam/1194/2004 hemagglutinin. *PLoS One.* 9(6):e99201, 2014.
- 10) Nakauchi M, Takayama I, Takahashi H, Oba K, Kubo H, Kaida A, Tashiro M, Kageyama T. Real-time RT-PCR assays for discriminating influenza B virus Yamagata and Victoria lineages. *J Virol Methods.* 205C:110-115, 2014
- 11) Nakauchi M, Takayama I, Takahashi H, Tashiro M, Kageyama T. Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid diagnosis of avian influenza A (H7N9) virus infection. *J Virol Methods.* 204:101-104, 2014
- 12) Ian G Barr, Colin Russell, Terry G Besselaar, Nancy J Cox, Rod S Daniels, Ruben Donis, Othmar G Engelhardt, Gary Grohmann, Shigeyuki Itamura, Anne Kelso, John McCauley, Takato Odagiri, Stacey Schultz-Cherry, Yuelong Shu, Derek Smith, Masato Tashiro, Dayan Wang, Richard Webby, Xiyan Xu, Zhiping Ye, Wenqing Zhang, and Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2013–2014. WHO recommendations for the viruses used in the 2013-2014 Northern Hemisphere influenza vaccine: Epidemiology, antigenic and genetic

characteristics of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B influenza viruses collected from October 2012 to January 2013. *Vaccine* 32, 4713–4725 (2014)

- 13) Shimasaki N, Okaue A, Kikuno R, Okuda S, Abe K. Development of a New Technique Using Glass beads for Dry Dispersion of Airborne Fungal Spores. *Biocontrol Science.* 20:53-58(2015).
- 14) Suzuki Y, Uchida Y, Tanikawa T, Maeda N, Takemae N, Saito T. Amino acid substitutions in PB1 of avian influenza viruses influence pathogenicity and transmissibility in chickens. *J Virol.* 88:11130-11139. 2014.
- 15) Matsuzaki Y, Sugawara K, Nakauchi M, Takahashi Y, Onodera T, Tsunetsugu-Yokota Y, Matsumura T, Ato M, Kobayashi K, Shimotai Y, Mizuta K, Hongo S, Tashiro M, Nobusawa E. Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A/(H1N1)pdm09 influenza virus by using monoclonal antibody escape mutants. *J Virol.* 2014 Nov;88(21):12364-73. doi:10.1128/JVI.01381-14.
- 16) Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Ainai A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T, Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. The host protease TMPRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses. *J Virol.* 2014 May;88(10):5608-16. doi: 10.1128/JVI.03677-13. Epub 2014 Mar 5.

## 2. 和文発表

- 1) 渡邊真治: 南半球と北半球のインフルエンザ流行に、関連性はあるのでしょうか？ インフルエンザ. 16(2):28, 2015
- 2) 高下恵美: 抗インフルエンザ薬耐性 A(H1N1)pdm09 インフルエンザの流行. 感染・炎症・免疫. 44(3):75-76,



2014

- 3) 高下恵美: 各都道府県の抗インフルエンザ薬耐性ウイルス調査はどのように行われているのでしょうか. インフルエンザ. 15(3):22, 2014.
- 4) 高下恵美: タミフル・ラピアクタ耐性インフルエンザウイルス. 医学のあゆみ. 252(4): 312-313, 2015
- 5) 高下恵美: 耐性インフルエンザウイルスの動向. 臨床と研究. 91(12):45-48, 2014
- 6) 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 2014-15. 157-160, 2014
- 7) 白倉雅之、今井正樹: 鳥インフルエンザの動向. 周産期医学. 44 (増刊号) : 26-32, 2014
- 8) 白倉雅之、小田切孝人: 鳥インフルエンザ -鳥インフルエンザ A(H7N9)の現状-. 公衆衛生情報. 44(9): 20-21, 2014
- 9) 大場邦弘, 加藤昭生, 古谷智子, 小花奈都子, 林健太, 村田岳哉, 野田雅裕, 石川涼子, 吉田知広, 野田絵理, 小鍛冶雅之, 高橋仁, 高山郁代, 中内美名, 影山努  
インフルエンザ A/H1 pdm09 亜型及び A/H3 亜型感染症による小児の入院診断名の比較 小児科臨床 68(1):47-51, 2014
- 10) 鈴木康司, 田代真人, 信澤枝里. インフルエンザウイルスの特徴と型別分類. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科. 86:890-897. 2014.

## II. 学 会 発 表

### 1. 国際学会

- 1) Takashita E, Ejima M, Fujisaki S, Nakamura K, Sato A, Sugawara H, Tashiro M, Odagiri T. A community cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan. 3rd

isirv-AVG Conference; Influenza and other Respiratory Virus Infections: Advances in Clinical Management. Tokyo, Japan. June 2014.

- 2) Kawakami C, Takeuchi M, Mitamura K, Takashita E, Odagiri T. Analysis of influenza virus responsible for persistent infection after drug administration in an immunosuppressed patient. 3rd isirv-AVG Conference; Influenza and other Respiratory Virus Infections: Advances in Clinical Management. Tokyo, Japan. June 2014.
- 3) Takashita E, Ejima M, Fujisaki S, Yokoyama M, Nakamura K, Shirakura M, Sugawara H, Sato A, Sato H, Tashiro M, Odagiri T. A community cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November 2013 to February 2014. 5th ESWI Influenza Conference. Riga, Latvia. September 2014.
- 4) Asanuma H, Ainai A, Nagata N, Tashiro M, Odagiri T. Relationship between innate immune responses and pathogenicity of influenza H7N9 virus that is adapted to mice. 4th International Influenza meeting, Münster, Germany September 2014
- 5) Ikeda K, Ito R, Ainai A, Suzuki T, Ohara Y, Tamura S-I, Odagiri T, Tashiro M, Asanuma H, Hasegawa H. The influence of previous infection or vaccination prior to the intranasal vaccination against influenza virus infectio.n. 4th International Influenza meeting, Münster, Germany September 2014

### 2. 国内学会

- 1) 高下恵美, 江島美穂, 藤崎誠一郎, 中村一哉, 白倉雅之, 菅原裕美, 佐藤彩, 小田切孝人: 札幌市を中心とした抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの地域流行 第28回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 鳥取 2014年7月

- 2) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、小田切孝人：2013/14 シーズンにおける抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの地域流行と高度耐性ウイルスの検出について  
第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会 東京  
2014 年 10 月
- 3) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、横山勝、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、佐藤裕徳、小田切孝人：2013/14 シーズンにおける NA 阻害剤耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスの地域流行  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 4) 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘、高下恵美：入院・重症例における AH1pdm09 インフルエンザウイルスの解析  
第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会 東京  
2014 年 10 月
- 5) Emi Takashita：Global update on the antiviral susceptibility of influenza viruses  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 6) 高下恵美：オセルタミビル・ペラミビル耐性 A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルスの地域流行 4th Negative Strand Virus-Japan 沖縄 2015 年 1 月
- 7) 川上千春、高下恵美、藤崎誠一郎、江島美穂、七種美和子、宇宿秀三、小田切孝人：過去 3 シーズンに混合流行した B 型インフルエンザウイルスの遺伝子解析  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 8) 渡辺登喜子、Gongxun Zhong、Colin Russell、中島典子、八田正人、Anthony Hanson、高橋健太、渡邊真治、今井正樹、長谷川秀樹、河岡義裕：スペイン風邪ウイルスに類似の鳥インフルエンザウイルスのパンデミックポテンシャル  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 9) 中内美名、高山郁代、大場邦弘、高橋仁、田代真人、影山努：RT-LAMP 法を用いた A/H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルス検出系の構築  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 10) 高山郁代、Nguyen Trung Hieu、中内美名、高橋仁、Nguyen Thanh Long、小田切孝人、田代真人、影山努：2014 年にベトナムでヒト感染が確認された高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスの遺伝子解析  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 11) A Yoppy R Candra, Anna L Poetranto, Aldise M Nastri, Edith F Puruhito, 横田(恒次)恭子, 西村 研吾, 影山努, 高原 悠佑, 堀田 博, 清水 一史：Comparative analysis for the detection of avian influenza H5N1 virus by using a novel luminescence analyzer(POCube) and real-time RT-PCR  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 12) 改田 厚, 入谷展弘, 山元誠司, 平井有紀, 廣川秀徹, 影山努, 久保英幸：麻しん診断例から検出された麻しんウイルス株の分子疫学解析(大阪市 2007~2014 年)  
第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会 東京  
2014 年 10 月
- 13) 大場邦弘, 高橋仁、高山郁代、中内美名、影山努：ARDS から多臓器不全に至ったインフルエンザ A/H1pdm 重症肺炎成人例におけるウイルス学的検討  
第 28 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 鳥取 2014 年 7 月
- 14) 佐藤佳代子、浅沼秀樹、高橋宜聖、阿戸学、田代真人、板村繁之：剤形の異なるインフルエンザワクチン

- により誘導される抗体の性状に対する TLR アゴニストの影響  
第 18 回日本ワクチン学会学術集会 博多 2014 年 12 月
- 15) Kayoko Sato, Manabu Ato, Hideki Asanuma :  
Evaluations of influenza vaccine immunogenicity using human cell lines  
第 44 回日本免疫学会学術集会 京都 2014 年 12 月
- 16) KONO Naoko, SUN Lin, ITAMURA Shigeyuki, TOH Hiroyuki, OHNISHI Kazuo : Next Generation Sequencer Analysis of the Antibody Repertoire in Response to a Model Antigen  
第 44 回日本免疫学会学術集会 京都 2014 年 12 月
- 17) SUN Lin, KONO Naoko, SHIMIZU Takeyuki, ITAMURA Shigeyuki, TOH Hiroyuki, OHNISHI Kazuo : Statistical prediction of antigen-specific antibodies using next generation sequencer (NGS) and its confirmation by antibody protein expression  
第 44 回日本免疫学会学術集会 京都 2014 年 12 月
- 18) 嶋崎典子, 篠原克明 : 防護服素材の飛沫曝露に対する防護性能評価  
日本防菌防黴学会第 41 回年次大会 東京 2014 年 9 月
- 19) 酒井宏治、網康至、田原舞乃、久保田耐、安楽正輝、中島典子、高下恵美、関塚剛史、駒瀬勝啓、信澤枝里、小田切孝人、前仲勝実、黒田誠、長谷川秀樹、河岡義裕、田代真人、竹田誠 : II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMRSS2 は、HA 開裂部位に MONO-basic なアミノ酸配列を持つ A 型インフルエンザウイルスに対する肺内必須活性化酵素である  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 20) 内藤忠相、齊藤峰輝、信澤枝里、小田切孝人、田代真人 : インフルエンザウイルスのゲノム変異導入率を制御する RNA ポリメラーゼの機能領域  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 21) 山本典生、浜本いつき、田代真人 : シクロスポリン A およびその誘導体のインフルエンザウイルス増殖に与える影響についての解析  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 22) Asanuma H, Ainai A : Innate immune responses in mice lung given novel influenza H7N9 virus acquired increased mortality by prolonged passage in mice  
第 44 回日本免疫学会学術集会 京都 2014 年 12 月
- 23) 齊藤慎二、van Riet Elly、相内章、鈴木忠樹、大原有樹、池田千将、伊藤良、泉池恭輔、高橋宜聖、浅沼秀樹、小田切孝人、田代真人、田村慎一、竹山春子、長谷川秀樹 : 経鼻インフルエンザワクチンにより誘導されたヒトモノクローナル抗体の特性解析  
第 18 回日本ワクチン学会学術集会 博多 2014 年 12 月
- 24) 李 天成、網 康至、須崎百合子、浅沼秀樹、岸田典子、白倉雅之、武田直和、脇田隆字 : フェレット E 型肝炎ウイルスの病原性と E 型肝炎動物モデル  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 25) 齊藤慎二、Elly van Riet、相内章、鈴木忠樹、池田千将、伊藤 良、泉池恭輔、高橋宜聖、浅沼秀樹、小田切孝人、田代真人、田村慎一、竹山春子、長谷川秀樹 : 高病原性鳥インフルエンザ A (H5N1) ウイルスの経鼻不活化全粒子ワクチンにより誘導されたヒトモノクローナル抗体の特性解析  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 26) 浅沼秀樹、相内章、佐藤佳代子、許斐奈美、田代真人、小田切孝人 : フェレットに対する免疫原性を基盤

とした細胞培養ワクチン用種株選定法の確立

第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11

月