

21. インフルエンザウイルス研究センター

センター長 小田切 孝人

概要

当センターは、インフルエンザに関する研究・開発業務及び国の新型インフルエンザ対策への支援と緊急対応体制の維持強化、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、東アジア地域を包括したサーベイランス網の活性化と技術支援およびWHO 世界インフルエンザ監視対応機構の運営へコアメンバーとして参画、WHO および国内ワクチン株の選定、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、6 室体制（第 1 室(ウイルスサーベイランス)、第 2 室(診断検査、国内外研修)、第 3 室(ワクチン製剤品質管理、GMP 管理)、第 4 室(季節性・新型ワクチン製造株の開発)、第 5 室(細胞培養ワクチン開発)、第 6 室(経鼻接種ワクチン開発)) で業務、研究活動を行っている。

人事異動では、平成 29 年 4 月 1 日付で藤崎誠一郎が主任研究官に昇任、平成 30 年 3 月 31 日付で信澤枝里が第 4 室長を定年退官した。

研究開発業務としては、孵化鶏卵に馴化しても抗原変異の起こりにくい H3N2 ワクチン候補株の開発に成功し、WHO から 2017/18 シーズン北半球向けワクチン推奨株の一つに選定され、また、平成 29 年度の国内 H3N2 ワクチン株候補にも推薦された。また、パンデミックインフルエンザ対策の一環として、ブタ由来の H3N2 ウイルスの迅速検出系の構築、鳥由来の H5 亜型ウイルスを広範に捉えることができるモノクロー抗体の作製に成功した。

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。4 価ワクチンの力価測定のために、交差反応性のないモノクロー抗体を採用した測定法を開発し、その有用性を検証した。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、ワクチン株選定会議で審議するためのワクチン株評価法の確立を進めた。さらに、細胞培養季節性インフルエンザワクチ

ンの導入に向けて、高増殖性ワクチン種ウイルス作製の母体ウイルスの開発、細胞培養ワクチンの品質管理のための迷入ウイルス否定試験系の開発、力価測定系の開発を完了した。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 ワクチン推奨株や海外情報も考慮して平成 29 年度のワクチン株の選定を行った。また、各地衛研に対して PCR 検査系の外部精度管理試験を実施し、並行して、ウイルス分離・培養の精度の改善に向けた実態調査と個別指導を行った。前年度に引き続き、インフルエンザワクチン力価測定用の標準試薬（抗原、抗血清）を製造し、国際標準化を行った。それらは、ワクチンの国家検定の参照品として採用された。さらに、国内で分離された高病原性鳥インフルエンザ H5N6 ウイルスから弱毒化ワクチン候補株を作製し、フェレット動物モデルによる安全性試験を実施し、当亜型のワクチン候補株とした。

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、PCR 技術改良会議、ワクチン株を適正に選定するための改良会議等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。また、ベトナム、モンゴ

ルに職員をそれぞれ派遣して、現地における感染診断検査やサーベイランスに関する技術指導を行った。

研修、教育に関する業務では、台湾 CDC からは研修職員を受け入れ、ワクチン検定関連の研修を実施した。また、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、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などを行った。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから8年が経過し、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、ワクチン品質管理の研究など、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. インフルエンザウイルスに関する研究

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

2013/14 から 2015/16 シーズンにかけて、日本国内で薬剤耐性変異を二重に有し抗インフルエンザ薬に強い耐性を示すインフルエンザ A(H1N1)pdm09 ウイルスが3株検出された。これらのウイルスは免疫抑制状態の患者に抗インフルエンザ薬を長期にわたり投与した後に検出され、NA 蛋白質に、H275Y 耐性変異に加えて I223K、I223R あるいは G147R 耐性変異をもっていた。二重耐性変異ウイルスはオセルタミビルとペラミビルに強い耐性を示し、ザナミビルに対する感受性も低下していた。また、H275Y/I223K および H275Y/I223R 変異ウイルスではラニナミビルに対しても感受性の低下が見られた。H275Y/I223R および H275Y/G147R 変異ウイルスは、感受性ウイルスと同等の増殖能をもっており、さらに H275Y/G147R 変異ウイルスは、感受性ウイルスと同様のウイルス適応性をもち、ヒトでの感染伝播能をもつ可能性が示唆された。[高下恵美、小川理恵、藤崎誠一郎、横山 勝、白倉雅之、中村一哉、桑原朋子、岸田典子、佐藤裕徳、土井育子*、佐藤祐二**、高尾信一***、島津幸

枝***、下村壮司****、伊藤琢生*****、三浦秀佳、佐藤彩、秋元未来、渡辺佳世、渡邊真治、小田切孝人：*茨城県衛生研究所、**筑波記念病院、***広島県立総合技術研究所保健環境センター、****広島西医療センター、*****呉医療センター]

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

近年、H3N2 ウイルスを鶏卵で分離・継代すると、鶏卵への馴化によって HA のレセプター結合部位 / 抗原部位に変異が入るため抗原性が変化し、流行株とワクチン株の抗原性が乖離する現象が起きている。これは、ワクチン株を選定する際の大きな問題となっている。我々は、鶏卵で継代を重ねても HA のレセプター結合部位 / 抗原部位には変異が入らず (レセプター結合部位 / 抗原部位ではないところに1ヶ所の変異)、流行株との抗原性が類似した A/Saitama/103/2014 (H3N2)株 (埼玉株) を得た。このウイルスは、細胞分離の埼玉株と比較して、NA に9ヶ所の変異を持っていた。我々は、鶏卵馴化埼玉株の NA に誘導された多数の変異の意義を明らかにするため、まず限界希釈により単一のクローンの分離を試みた。その結果、NA に2ヶ所の変異を持つウイルス (NA 2m ウイルス) と7ヶ所に変異を持つウイルス (NA 7m ウイルス) の2種類が分離された。一般的に鶏卵馴化株の HA のレセプター結合部位 / 抗原部位への変異は、HA が鶏卵のレセプターへ結合しやすくするために誘導される。鶏卵馴化埼玉株は、HA ではなく NA に多数の変異が誘導されたことから、NA が鶏卵のレセプターへの結合に関与したと考えられた。そこで NA 2m ウイルスと NA 7m ウイルスの NA のレセプターへの結合能を調べるために、それぞれのウイルスの NA を細胞に発現させ赤血球吸着反応により調べた。その結果、これらの NA は赤血球を効率良く吸着したため、NA がレセプターへの結合に関与することが示唆された。[桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、高橋 仁、秋元未来、小川理恵、佐藤 彩、三浦秀佳、菅原裕美、渡邊真治、小田切孝人]

3. プタ由来 H3N2 亜型の変異型インフルエンザウイルス (A/H3N2v)検出系の構築

2011年7月以降、米国ではブタ由来 H3N2 亜型の変異型インフルエンザウイルス(A/H3N2v)のヒト感染例が相次いで報告されている。以前にリアルタイム RT-PCR 法を用いた A/H3N2v ウイルス検出系を構築しているが、近年の H3N2 亜型の季節性インフルエンザウイルス(香港型)の流行株に合わせてより高感度・特異的に検出できるよう検出系の改良を行い、新たに A/H3N2v ウイルスおよび A/H3N2 ウイルス(香港型)をそれぞれ同定可能な検出系を構築した。これにより A/H3N2 ウイルス(香港型)と区別して、直接 A/H3N2v ウイルスを高感度・特異的に検出する事が可能となり、国内でこのウイルスが流行した場合でも直ぐに検査できる体制を確立できた。[齊藤慎二、高山郁代、中内美名、永田志保、小田切孝人、影山 努]

4. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の A/H5N6 ウイルスに対する反応性について

H5 HA のアミノ酸配列中で高度に保存され且つ立体構造の表面上に位置し抗原部位と成り得る領域に対する合成ペプチドをマウスに免疫して作製したモノクローナル抗体は、幅広いクレードの A/H5N1 ウイルスに対して特異的な反応性を示す事が明らかになっている。近年、中国では A/H5N6 の高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が報告されている。作製したモノクローナル抗体がこの A/H5N6 ウイルスに対して反応するかどうかを確認して、H5 亜型共通のインフルエンザ迅速診断法の構築などにモノクローナル抗体が利用できるかどうかについて検討を行った。その結果、ペプチド配列と比べると A/H5N6 ウイルスの HA 抗原には数個のアミノ酸置換があるにも関わらず、A/H5N6 ウイルスに対してモノクローナル抗体が特異的に反応する事を確認した。以上の結果から、これまでに得られた抗体クローンは幅広いクレードの H5 HA 抗原に対して反応性を示し、H5 亜型共通のインフルエンザ迅速診断法の構築などにも利用できる可能性がある事が明らかとなった。[高橋仁、永田志保、小田切孝人、影山努]

5. 中国で発生したインフルエンザ H7N9 株の動物における感染性の検討

2013年より中国で発生した新規インフルエンザ H7N9 株の動物における感染性および病原性を検討しており、

前年度までに以下の性質を有することを示してきた。

- ・ A/Anhui/1/2013 (Anhui 株 : H7N9) 株はマウスで高い致死性を有しているが、高病原性トリインフルエンザ (HPAI) に認められるような全身的な感染は認めない。
- ・ Anhui 株をマウスに馴化した場合 (Anhui-M 株)、原株よりも非常に高い致死性を獲得した。
- ・ Anhui-M 株を上気道に限局した感染させた場合、上気道から急速に肺へ感染が移行する。
- ・ 馴化株では感染初期における Type I IFN 関連遺伝子群の発現が原株よりも低い。
- ・ 遺伝子解析の結果から、このような増殖性の変化には PA 分子が関与していることが示唆された。
- ・ 馴化株から単離したクローンにおいても高い致死性が認められた。

しかし単離クローンについての致死性以外に関する性状が不明であったため、遺伝子解析ならびに抗原性等についての検討を行った。その結果、クローニングの前のウイルスでは PA 分子の遺伝子変異が致死性と相関することが示唆されたが、高い致死性を示した単離クローンのうち、およそ半数は PA に変異が見られたが、もう半数では HA の 143 番目と 198 番目のアミノ酸の変異が認められた。しかし抗原性の変化は認められなかった。このことから馴化した Anhui-M のマウスでの致死性は、PA と HA のそれぞれの変異が関係することが示唆された。

[浅沼秀樹、小田切孝人、相内 章* : *感染病理部]

II. インフルエンザワクチンに関する研究

1. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種者血清の抗体保有率、陽転率、および流行株との交差反応性を調べることは、インフルエンザワクチンの有効性やワクチン株の変更の必要性を検討するうえで重要である。そこで、2017/18 シーズンの季節性インフルエンザワクチン接種をうけた成人層および老人層のそれぞれペア血清検体を用いて、ワクチン製造株および流行株に対する反応性を評価した。評価に際し、国内ワクチン接種後血清試料のうち、赤血球凝集抑制 (HI) 試験により、ワクチン抗原である A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (H1N1)pdm09、B/Phuket/3073/13 (山形系統)、B/Texas/2/13 (ビクトリア

系統) 株のいずれかに対する抗体価が 160HI 価以上のものを成人層、老人層からそれぞれ 24 検体抽出し、試験に用いた。ワクチン接種者血清は A(H1N1)pdm 流行株と比較的高い反応性を示したが、B 型山形系統流行株に対して低い反応性が認められた。B 型ビクトリア系統については、野外流行株との比較的高い反応性が確認できた一方、当該シーズンに出現した HA のアミノ酸が欠失した株との低い反応性が認められ、今後このアミノ酸欠失株の流行が拡大した場合のワクチン効果減弱が懸念された。A(H3N2)株に対する抗体価の評価は HI 試験で実施することが困難である近年の状況を踏まえ、中和試験による評価を行った。ワクチン抗原に対する相同抗体価は高値を示し、ワクチン抗原の免疫原性は相応に高いことが推察されたが、A(H3N2)野外流行株との反応性は乏しく、高いワクチン効果は見込めないと考えられた。以上から、A(H1N1)pdm09 に対してはワクチンの効果が期待されるが、それ以外の亜型系統流行株に対しては脆弱なワクチン効果が懸念された。また、米国、英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。米国のワクチン接種者血清の HI 抗体幾何平均値の上昇倍率が大きく、それに比して日本のワクチン接種者血清のその上昇倍率が極めて低かったことから、日本のワクチンの免疫原性の低さもワクチン効果増強に向けて改善が必要な点として挙げられた。これらの成績を WHO インフルエンザ協力センター間で共有し、2 月に開催された WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議での議論に際し、有用な資料として活用された。[中村一哉、桑原朋子、佐藤 彩、秋元未来、渡辺佳世、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、小川理恵、菖蒲川由郷*、齋藤玲子*、渡邊真治、小田切孝人：*新潟大学国際感染医学講座]

2. ワクチン力価新規試験法の開発

平成 27 年度より導入された 4 価ワクチンに関して、従来の一価放射免疫拡散 (SRD) 試験法による力価試験 (ワクチンの有効成分である HA 量を測定する試験) では、B 型の山形系統とビクトリア系統のワクチン 2 株の間で交差反応が起こり、正確な HA 含量測定が困難或いは測定不能になっていることを解決するため、交差反応がないモノクローナル抗体を使用した新規の力価試験法の開

発を進めている。これまでに、B 型の系統特異的なモノクローナル抗体を使用して、HA 三量体を同一のモノクローナル抗体で capture と detect する sandwich ELISA 法による力価測定法の開発を行い、SRD 法では交差反応により測定不能だった B 型ワクチン株の組み合わせの 4 価ワクチンに対しても測定が可能となり、測定再現性が比較的良好 (C.V.<10%) な ELISA 系が開発できた。本年は、SRD 法と開発 ELISA 法との相関性を調べるため、ワクチンを加熱変性させた複数の検体について、両測定法の結果を比較したところ、SRD 測定値の減少と ELISA 測定値の減少は概ね一致していた。これは、開発 ELISA 法が SRD 法と同様に、生物学的活性のあるワクチン蛋白の構造を測定していることを示唆する。なお、SRD 標準品を ELISA 測定のスランダーに用いた場合、ELISA 法と SRD 法が一致した力価になるワクチン株とそうでない株があったため、ELISA 用の標準品を制定する必要性が認識された。

更に、現行のワクチンは、全粒子ウイルスをエーテル等でウイルス膜成分を可溶化したスプリットワクチンであり、先行研究に拠り、スプリットワクチンのスプリット化の程度は免疫原性の有用な品質管理項目になり得ることから、ワクチンの物理化学的性に基づく力価新規検出法の開発を行った。まず新規検出法の指標探索として、マウスでの中和抗体誘導に関する免疫原性が異なった A(H3N2)の 2 株のスプリットワクチンについて、ワクチンの粒度分布をサイズ排除クロマトグラフィー等いくつかの方法で測定したところ、2 株のスプリットワクチンにおける粒度分布が異なることが判った。スプリットワクチンの各粒度の成分と免疫原性との関係について現在解析を進めている。[嶋崎典子、板村繁之]

3. 弱毒生インフルエンザワクチンの力価測定法の開発

弱毒生ワクチンはウイルス感染価を力価とする。その測定には、感染細胞を蛍光染色し、検鏡下で感染細胞数を直接計数する蛍光フォーカスアッセイ法を用いるが、感染細胞の染色の程度が多岐に渡ることから、細胞数計測の測定者間差異が大きくなることが懸念された。そこで、画像解析による計数の自動化を試みた。感染細胞の特異的抽出と計数は、感染細胞の蛍光量不足やノイズパターンとの識別が困難なものも有り、完全な自動化には

至らなかった。一方で、ノイズの出現頻度はそれほど高くなかったことから、擬似的に蛍光検出の感度を高めるとともに、測定に用いる計数量を増加させることで力価測定の自動化が可能か、検証中である。[原田勇一、板村繁之]

4. 弱毒生インフルエンザワクチンのワクチン株評価法の検証

弱毒生インフルエンザワクチンの製造用ウイルスには、従来国内で流通していた不活化スプリットワクチンの製造株をそのまま利用することが難しく、別途至適な生ワクチン製造用ウイルスを選定する必要がある。生ワクチン製造候補株をフェレットに感染させて得た抗血清を用いて、野外流行株に対する血清中抗体価に基づき、ワクチンとしての有効性、ワクチン製造株としての妥当性を抗原的に評価する方法について、その有用性を検討した。当該生ワクチン製造候補株感染血清の相同力価が低めであり、製造株と野外流行株の抗原性差異を明確には評価できない場合もあり、これら懸案事項の改善が今後の検討課題として挙げられた。[中村一哉、岸田典子、秋元未来、佐藤彩、渡邊真治、小田切孝人]

5. インフルエンザワクチンにより誘導される免疫応答に関する研究

インフルエンザワクチンにはウイルス粒子をホルムアルデヒドで固定した全粒子ワクチンとウイルス粒子をさらにエーテルで処理し脂質膜を除去し部分的に HA 成分を精製した HA ワクチンがある。これまでに全粒子ワクチンと HA ワクチンにより産生誘導される抗体に質的違いがあることを明らかにしてきた。一方、全粒子ワクチンと HA ワクチンの違いとしては全粒子ワクチンには ssRNA が含まれているため TLR を介したシグナルが伝達されるが、HA ワクチンでは起こらないことが知られている。そこで HA ワクチン免疫時に TLR アゴニストを同時投与し、産生誘導される抗体の質に影響があるかを検討し、その抗体がワクチン防御効果に寄与するかを評価したところ、TLR アゴニストにより産生誘導される抗体の質的変化が誘導され、ワクチン防御効果が増強することが示された。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之]

6. 細胞培養ワクチン株作製用母体ウイルスの有用性の検討

現在、細胞培養季節性インフルエンザワクチン製造株は、臨床検体から分離した季節性インフルエンザウイルスの野生株の使用が予定されている。しかし、野生株の中には増殖性が低く、増殖性を高めるために細胞での継代が必要になる場合がある。季節性インフルエンザウイルスの増殖性改善を目的に、HA と NA の遺伝子を野生株由来、その他の遺伝子を細胞培養用の高増殖母体ウイルス (hg-PR8 株) 由来としたリアソータントウイルスを作製し、NIID-MDCK 細胞における増殖性の検討を行った。季節性インフルエンザウイルスの H3N2 亜型由来の HA と NA の遺伝子を持つリアソータントウイルス (Wakayama/HG、Mie/HG) を作製したが、どちらのウイルスも NIID-MDCK 細胞での増殖は確認されなかった。そこで、HA と NA に細胞馴化変異を導入したウイルスを作製し、NIID-MDCK 細胞における増殖性の検討を行った。Wakayama/HG は HA の T160K 変異および NA の D151N 変異を持つことで野生株と同等のウイルス力価を示すウイルスとなった。Mie/HG は HA の T160K 変異を持つことで野生株よりも約 100 倍高いウイルス力価を、HA の T160K 変異および NA の D151N 変異を持つことで野生株よりも約 1000 倍高いウイルス力価を示すウイルスとなった。HA と NA に導入した細胞馴化変異による抗原性への影響は、Wakayama/HG と Mie/HG のどちらにおいても見られなかった。これらの結果から、hg-PR8 株を母体ウイルスにしたリアソータントウイルスを作製し、HA と NA に細胞馴化変異を導入することは低増殖株の増殖性改善に有効であることが示唆された。[鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

7. 細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けての取り組み

日本の季節性インフルエンザワクチン製造に細胞培養法を導入するために、昨年度に引き続き下記課題への取り組みを行った。[(1) 細胞培養ワクチン株 (種株) の開発. (2) 細胞培養ワクチンの品質評価法の開発.] 課題 (1) : 今年度も感染研所有の NIID-MDCK 細胞を用いて 2016/17 シーズンの臨床検体から分離したウイルス (元株) をワクチン製造所へ分与し、ワクチン株開発に

供した。各ワクチン製造所社により、進捗が異なるが、昨年度までに分与した元株に由来するワクチン製造種株候補に対して、当室で抗原解析試験を行い、WHO が推奨する当該シーズンの抗原的基準株（プロトタイプ株）との抗原的同等性につき評価を行った（詳細は別記）。今後、これまでに分与した元株から開発された全ての種株候補に関して抗原解析試験を行い、種株開発に関わる今後の課題を明らかにする。課題（2）：課題（1）で開発された一部の種株候補をもとに試薬を作製し、試験を行った（詳細は別記）。引き続き、上記製造所の4価ワクチンや他社の試作ワクチンに対して試験を行い、細胞培養季節性ワクチン実用化のための課題を明らかにしていく。[信澤枝里、高橋仁、浜本いつき、小田切孝人、ワクチン製造所（化血研、北里第一三共、武田薬品工業、阪大微研会）]

8. 細胞培養ワクチン株（種株）の開発

NIID-MDCK 細胞を用いて各インフルエンザシーズン（2010/2011、2011/2012、2014/2015、2015/2016）に採取された臨床検体から分離したウイルス（元株）をワクチン製造所へ分与し、A/H1N1pdm09 亜型、A/H3N2 亜型、B/ビクトリア系統、B/山形系統の候補種株の作製を行った。これら候補種株の多くが、当該シーズンを代表するプロトタイプ株と同等の抗原性を示し、細胞培養ワクチン種株として資するものであることを確認した。[信澤枝里、高橋仁、浜本いつき、小田切孝人、ワクチン製造所（化血研、北里第一三共、阪大微研会）]

9. 細胞培養ワクチンの品質評価法の開発

細胞培養ワクチンの HA 抗原量測定のための一元放射免疫拡散(SRD)試験用試薬の作製と、その試薬を用いた HA 抗原量の測定を行った。現行の鶏卵ワクチンと同じ剤形となる 4 価ワクチンでの検討を行うために、A/H1N1pdm09 亜型、A/H3N2 亜型、B/ビクトリア系統、B/山形系統の種株を用いた SRD 試薬およびワクチン（単価、4 価）の作製と、HA 抗原量の測定を実施した。その結果、全ての単価ワクチンおよび 4 価ワクチン中の HA 抗原量を求めることができた。[高橋仁、藤本貴男*、堀越史朗*、魚谷多恵*、奥谷三慧*、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里：*阪大微研会]

10. 迷入ウイルスに対する NIID-MDCK 細胞の感受性評価

細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化のため「細胞培養ワクチン株開発」を日本のワクチン製造所社とともに行っている。その際、当室ではインフルエンザ患者の臨床検体から、NIID-MDCK 細胞を用いてウイルスを分離し、元株として各所社に分与している。しかし、元株分離の過程で、臨床検体に由来するインフルエンザウイルス以外の迷入ウイルスが、元株に混入する可能性がある。そこで、NIID-MDCK 細胞における迷入ウイルスの増殖能を検討し、その元株分離用細胞としての有用性を評価した。インフルエンザと重複感染する可能性の高い呼吸器系ウイルス 8 種類を選択し、各ウイルスの増殖用細胞と NIID-MDCK 細胞に、それぞれ感染させて、継代を繰り返した。各継代後に培養上清からそれぞれのウイルス核酸を抽出し、マルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法を用いてウイルスコピー数を測定した。その結果、今回検討した呼吸器系ウイルスのうちパラインフルエンザウイルス 3 型以外のウイルスは、増殖用細胞では、増殖するのに対し、NIID-MDCK 細胞で継代を繰り返すことによって、培養上清中のウイルスゲノムは検出限界以下になった。従って、NIID-MDCK 細胞を用いて元株を分離することで、今回検討したウイルスのうち 7 種のウイルスに関しては、元株に混入する可能性は低いことが示唆された。また、インフルエンザウイルスと HPIV3 を NIID-MDCK 細胞に共感染させて、HPIV3 に対する感受性を調べた。A 型インフルエンザウイルス存在下では、継代後も HPIV3 ゲノムは維持されたが、B 型インフルエンザウイルス存在下では、HPIV3 ゲノムは 2～3 代目で検出限界以下となった。従って、NIID-MDCK 細胞は、A 型あるいは B 型インフルエンザウイルス存在下では HPIV3 に対する感受性に差異が認められた。[浜本いつき、高橋仁、水田克巳*、佐藤光**、西村秀一**、小田切孝人、信澤枝里：*山形県衛生研究所、**国立病院機構仙台医療センター]

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

現行のインフルエンザワクチンは主に以下の問題を抱

えている。

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

このような問題点を解消するためにウイルス様粒子型 (VLP) 経鼻インフルエンザワクチンの開発を行っている。昨年度までに A/California/7/2009 (A(H1N1)pdm09)株の HA 遺伝子を用いた VLP (Cal7 HA-VLP) を経粘膜アジュバントの CpG-ODN G9.1 (G9.1) とともにマウスに経鼻投与した場合の免疫応答ならびに防御効果を検討し、Cal7 HA-VLP は現行のスプリットワクチン (X-179A) よりも免疫原性が高いこと、ならびに G9.1 は粘膜経由で高い免疫増強効果を有することを示してきた。今年度は経鼻ワクチンの安全性に関連する因子、特に炎症関連遺伝子群等についての検討を行った。マウスに G9.1、ODN1826 もしくは Poly(I:C)を経鼻投与 1 日後、肺から mRNA を採取し Type I IFN 関連遺伝子群の発現を検討した。その結果、ODN1826 と Poly(I:C)では顕著な誘導が認められたのに対し、G9.1 では部分的な誘導に留まっていた。また肺洗浄液 (BAL) 中の IFN- α 誘導では、ODN1826 で参照品である全粒子ワクチンよりも高い誘導が認められたのに対し、G9.1 は参照ワクチンよりも低い誘導に留まっていた。このことから、G9.1 は他の粘膜アジュバントよりも高い安全性があることが示唆された。[浅沼秀樹、小田切孝人、前山順一*、山本典生**、伊保澄子***、山本三郎****、藤橋浩太郎***** : *血液安全性研究部、**順天堂大・医、***福井大・医、****日本 BCG 研究所、*****東大・医科研]

12. 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。前年度までに抗体応答を測定するための唾液の採取方法の確立を行い、ワルトン管からの唾液採取が高濃度、かつ夾雑物が少ない分泌型 IgA 抗体 (SIgA) が回収できることを示した。今年度はヒトから採取された血清、唾液ならびに鼻腔洗浄液を用いて、季節性インフルエンザ抗原特異抗体についての解析を行った。48 名から血清、唾液ならびに鼻腔洗浄液 (1 つ以上) を回収し、濃縮鼻腔洗

浄液と血清のスクリーニングを終えた。その結果、濃縮鼻腔洗浄液では 4 検体に A/H1N1pdm もしくは A/H3N2 に対する高い抗体価が認められ、7 検体に B/Vic、9 検体に B/Yam に対する高い抗体価が認められた。今後、唾液中の抗体価を測定し、鼻腔洗浄液や血清その相関性について解析を進める。[浅沼秀樹、黒野祐一*、大堀純一郎*、藤橋浩太郎**、小田切孝人 : *鹿児島大学・医、**東大・医科研]

レファランス業務

1. サーベイランスキット作製と国内への配布

A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B/Victoria 系統、B/Yamagata 系統のレファランスウイルスから不活化抗原とウサギ免疫血清を作製して、型/亜型/系統を同定するためのインフルエンザウイルスサーベイランスキットとして、70 カ所余の地方衛生研究所に配布した。本キットにより同定されたウイルスの分離情報は地衛研で病原体検出情報システムに登録され、その情報は地衛研から当室へのウイルス提供に際して有効に活用された。提供されたウイルスについて詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行いインフルエンザの流行予測およびワクチン株選定の資料とした。[中村一哉、岸田典子、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、渡辺佳世、佐藤 彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

2. フェレット感染血清作製とサーベイランスキットの海外への配布

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

3. 地方衛生研究所における抗インフルエンザ薬耐性検査の実態調査

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

4. 地方衛生研究所におけるウイルス分離培養および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、本年度は東北・北海道および近畿ブロックの地方衛生研究所を主として 26 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 Yamagata、B Victoria、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。[中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、渡辺佳世、佐藤 彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人、全国地方衛生研究所]

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

平成 29 年度外部精度管理事業として、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の核酸検出検査（リアルタイム RT-PCR 法）による型・亜型診断検査の外部精度評価(EQA)を実施した。各地方衛生研究所から送付された結果報告およびアンケートに対して解析を行い、EQA の結果については各所に報告した。また、EQA を実施した結果、各所が行うインフルエンザウイルス核酸診断検査法に何らかの問題点が見つかった場合はトラブルシューティングを実施する事とし、各所のトラブルシューティングに関する質問事項等に対応し、検査精度向上に向けた改善法などについて助言を行った。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二、小田切孝人]

6. 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、B/Brisbane/60/2008 [CBER]、B/Phuket/3073/2013 (BVR-1B) [TGA] 、 A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180)-cell derived [TGA]、A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180) [TGA] 、

A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) (IVR-186) [TGA]、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) (NIB-104) [NIBSC]、B/Phuket/3073/2013 [TGA]、A/Hong Kong/125/2017 (H7N9) (IDCDC-RG56B) [CBER]、A/Singapore/GP2050/2015 (H3N2)-cell derived [NIBSC]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、仲山紀子、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人]

7. 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 29 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/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)(H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 の 4 株、および当初ワクチン製造株として選定されたが、その後実製造での製造効率が低いことが判明して変更になった A/Saitama/103/2014 (CEXP002)(H3N2)について、国家検定の力価試験に使用する参照抗インフルエンザ HA 抗血清と標準インフルエンザ HA 抗原（一元放射免疫拡散試験用）を作製し、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量、及び参照抗血清の至適濃度の設定を実施し、本年度国内標準品として制定した。また、B 型ウイルスの 2 株については、昨年度に引き続いて、SRD 試験方法の評価研究結果に基づき、SRD 試験の実施区分を制定した。[嶋崎典子、原田勇一、佐藤佳代子、板村繁之、仲山紀子、小田切孝人]

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

国家検定の力価試験として一元放射免疫拡散（SRD）試験あるいは卵中和試験を行うこととされているが、通常は SRD 試験が力価試験として実施されている。SRD 試験で HA 含量が規定されたワクチンのマウスにおける免疫原性を確認することを主な目的として、卵中和試験に使用するウイルス株ごとに 15 µg/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを作製している。本年度の参照ワクチンとして、平成 29 年度のワクチ

ン製造株である A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (H1N1)pdm09、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263)(H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 の 4 株のワクチンを含有するものを作製した。また、H3N2 ワクチン株を A/Saitama/103/2014 (CEXP002)(H3N2)とした参照ワクチンも作製した。参照ワクチンの作製に使用する原液について HA 価測定及び分画試験を実施して原液の品質規格を確認した。また、SRD 試験によって原液の HA 含量を測定して、ウイルス株ごとに 15µg/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを調製した。得られた参照ワクチンについて、たん白質含量試験、マウス白血球数減少試験を実施して規格に適合していることを確認し、卵中和試験によってその力価を測定した。[佐藤佳代子、嶋崎典子、原田勇一、仲山紀子、板村繁之、谷生道一*、楠英樹*、浜口功*、持田恵子**、蒲地一成**、柴山恵吾**、小田切孝人：*血液・安全性研究部、**細菌第 2 部]

9. 標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)の作製

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

サーベイランス業務

1. 2017/18 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)pdm09：186 株、A(H3N2)：182 株、B 山形系統：193 株、B ビクトリア系統：58 株について抗原性解析を行った。また、医療機関から臨床検体の提供を受けて分離培養した A(H1N1)pdm09: 40 株、A(H3N2)：53 株、B 山形系統：42 株、B ビクトリア系統：1 株についても同様に解析した。2017/18 シーズンは序盤に A(H1N1)pdm09 ウイルスが流行したが、その後 B 山形系統の流行が拡大し、A(H1N1)pdm09 ウイルスの減少に伴い、A(H3N2) ウイルスの流行がした。シーズンを通じての各ウイルスの検出割合は約半数が B 山形系統であり、A(H1N1)pdm09 と A(H3N2)は同程度であった。B ビクトリア系統の流行は

比較的小規模であった。A(H1N1)pdm09 分離株のほぼ全ては WHO ワクチン推奨株である A/Michigan/45/2015 ないし国内ワクチン株 A/Singapore/GP1908/2015 と抗原的に類似していた。A(H3N2)分離株はワクチン株の A/Hong Kong/4801/2014 と抗原性の異なる株が流行株の半数近くを占めた。B 山形系統および B ビクトリア系統の流行株は、いずれも B 山形系統ワクチン株 B/Phuket/3073/2013、B ビクトリア系統ワクチン株 B/Texas/02/2013 にそれぞれ抗原性が類似していた。しかし、B ビクトリア系統については、ワクチン株 B/Texas/02/2013 と抗原性が乖離した株が複数認められてきた。B ビクトリア系統のこれらの抗原性の異なる株は、約 2 年前より北米を中心に検出された変異株と抗原的に類似していた。これら流行株の抗原性解析結果をまとめた情報を感染症疫学センターの IASR ウェブサイトにて開示した。[中村一哉、岸田典子、桑原朋子、佐藤 彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、渡辺佳世、小川理恵、三浦秀佳、渡邊真治、小田切孝人、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦****：*永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***市川こどもクリニック、****座間小児科診療所]

2. アジア地域および近隣諸国で分離されたインフルエンザウイルス流行株の抗原性解析

東南アジアおよび近隣諸国 WHO インフルエンザ協力センターから 246 株（台湾 114 株、ミャンマー5 株、ラオス 105 株、モンゴル 4 株、韓国 18 株）の分離株を入手し、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/Michigan/45/2015 の類似株が主流を占めた。A(H3N2)流行株の 5 割程度が 2016/17 シーズンワクチン株 A/Hong Kong/4801/2014 と抗原的に乖離していた。B ビクトリア系統分離株はワクチン株 B/Brisbane/60/2008 あるいは B/Texas/02/2013 の抗原性類似株が多かったが、ラオス分離株には抗原性が異なるものが存在していた。B 山形系統分離株はワクチン株 B/Phuket/3073/2013 の抗原性類似株が主流であった。これらの解析結果は、ウイルス提供国へ還元され、WHO 世界インフルエンザ監視対応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。[中村一哉、岸田典子、桑原朋子、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉

雅之、三浦秀佳、高下恵美、渡辺佳世、小川理恵、渡邊真治、小田切孝人]

3. A(H3N2)分離株の抗原性解析手法の改良

近年の A(H3N2)株は HA 蛋白質による赤血球凝集活性が極めて弱く、HI 試験による分離株抗原性解析が行えない状況であるため、中和試験法を代替手法とした分離株抗原性解析が行われている。この中和試験による抗原性解析の試験結果の再現性や精度をより高めるために感染細胞巢減数試験 (Focus reduction assay, FRA) 応用し改良手法として導入した。本改良手法によって 2017/18 シーズンの A(H3N2)分離株の抗原性について必要十分な解析を行い、得られた結果を WHO および国内向けワクチン株選定会議へ提供、活用された。[中村一哉、岸田典子、秋元未来、佐藤 彩、桑原朋子、渡邊真治、小田切孝人]

4. 2017/18 シーズンのヒトインフルエンザウイルス流行株の遺伝子解析

インフルエンザウイルスの HA と NA 遺伝子の変化に関する情報は、次シーズンのインフルエンザ流行予測とワクチン株選定時の基盤となり、公衆衛生上極めて重要な役割を担っている。全国地衛研および医療機関の協力の元に、本シーズンは A(H1N1)pdm09 亜型 119 株、A(H3N2)亜型 105 株、B 型山形系統 104 株、B 型ビクトリア系統 30 株について HA 及び NA 遺伝子の系統樹解析を行った。A(H1N1)pdm09 亜型は全ての株がサブクレード 6B.1 (S84N, S162N, I216T) に属し、さらにほとんどの株は 6B.1 内で S74R, I295V, S164T を持つ集団に属した。A(H3N2)亜型は、全てクレード 3C.2a (L3I, N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H, D489N) に属した。また遺伝子的多様化が進み、3C.2a 内ではサブクレード 3C.2a1 (N171K, I406V, G484E)、3C.2a2 (T131K, R142K, R261Q)、3C.2a3 (N121K, T135K, S144K, R261Q)、3C.2a4 (N31S, D53N, R142G, S144R, N171K, I192T, Q197H) が形成された。そして 3C.2a1 には 3C.2a1a (3C.2a1+ N121K, G479E, T135K, N122D)、3C.2a1b (3C.2a1+ N121K, K92R, H311Q) が、さらに 3C.2a1b には 3C.2a1b + 135K (3C.2a1b+ E62G, R142G, T135K)、3C.2a1b + 135N (3C.2a1b + T135N) が形成された。B 型山形系統は全てクレード 3 (S150I, N165Y, N202S, S229D) 内の L172Q, M251V に属した。ピ

クトリア系統は全てクレード 1A (N75K, N165K, S172P) に属した。海外で報告されている、HA 蛋白質の 2 アミノ酸 (162, 163 番アミノ酸) 欠損あるいは 3 アミノ酸 (162 ~ 164 番アミノ酸) 欠損の抗原性変異株はクレード 1A 内にそれぞれ群を形成している。2 アミノ酸欠損株は国内では散発的に検出されている。データベース充実化のために、上述した株のうち約 30% については全セグメントの遺伝子解析を実施した。なお、解析した遺伝子配列はインフルエンザウイルスデータベース GISAID へ登録した。また、作成した系統樹を感染症疫学センターの IASR ウェブサイトに掲載した。[藤崎誠一郎、白倉雅之、岸田典子、中村一哉、高下恵美、桑原朋子、三浦秀佳、渡辺佳世、佐藤 彩、小川理恵、秋元未来、渡邊真治、小田切孝人、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦**** : *永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***市川こどもクリニック、****座間小児科診療所]

5. インフルエンザウイルス流行株の抗インフルエンザ薬感受性試験

薬剤耐性ウイルスの検出状況を逐一把握し、速やかに情報発信することは公衆衛生上極めて重要である。平成 29 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 432 株、A(H3N2)分離株 443 株、B 型分離株 648 株の薬剤感受性を解析した。その結果、日本国内では、A(H1N1)pdm09 で NA 蛋白質に H275Y 耐性変異をもつオセルタミビル・ペラミビル耐性株が 12 株検出された。耐性株はいずれも散発例で、地域への感染拡大は認められなかった。また、台湾では、B 型山形系統で NA 蛋白質に R150K 変異を持ち 4 薬剤すべてに対して耐性を示す多剤耐性株が 1 株検出された。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毎週一般公開し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。[高下恵美、小川理恵、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、佐藤 彩、秋元未来、渡辺佳世、渡邊真治、小田切孝人、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦**** : *永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***

市川こどもクリニック、****座間小児科診療所]

6. 季節性インフルエンザワクチン候補株の鶏卵における分離

現行の季節性インフルエンザワクチンは、発育鶏卵で分離されたウイルスを使用する必要がある。より有効性の高いワクチン株の選定に貢献することを目的として、国内の医療機関から提供された臨床検体を鶏卵に接種し、ワクチン候補株の分離を試みた。その結果、ワクチン候補株として 76 株のウイルス [A(H1N1)pdm09 分離株 37 株、A(H3N2)分離株 21 株、B 型ビクトリア系統 3 株、B 型山形系統 15 株] を分離することに成功した。さらに、鶏卵分離代表株に対するフェレット感染血清を作製し、抗原性解析における参照株として活用した。[高下恵美、渡辺佳世、桑原朋子、小川理恵、秋元未来、中村一哉、岸田典子、藤崎誠一郎、白倉雅之、佐藤 彩、三浦秀佳、渡邊真治、小田切孝人、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦**** : *永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***市川こどもクリニック、****座間小児科診療所]

7. 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相関していることから、渡り鳥によってこれら鳥インフルエンザウイルスが我が国に持ち込まれる可能性がある。また、最近では H5N8、H5N6、H7N7、H7N9、H6N1、H10N8、H9N2 亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が東アジアで報告されており、鳥インフルエンザウイルスの国内での流行状況を把握する事は重要である。これらウイルスの我が国への侵入をモニターし、ウイルスライブラリーの構築を目的として、地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥より採取した糞便を用いて鳥インフルエンザウイルスの分離培養を試みたが、本年度はウイルスを分離する事はできなかった。[高山郁代、中内美名、齊藤慎二、小田切孝人、影山 努]

8. 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9カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液をMDCK細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行ったが、本年度は、いずれの地方衛生研究所からも分離報告はなかった。[齊藤慎二、高山郁代、中内美名、小田切孝人、影山 努]

9. 2016年に日本で分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N6 亜型)を元株にしたワクチン株候補の作製

2016年11月から日本でクレード2.3.4.4に属するH5N6亜型の高病原性鳥インフルエンザが発生し、ウイルスが分離された。2017年2月27日から3月1日に開かれたWHO北半球用ワクチン株選定会議で、クレード2.3.4.4に属するH5N6亜型のウイルスA/duck/Hyogo/1/2016(H5N6)を元株にしたワクチン株候補の作製を当センターで行うことが決定された。

HA遺伝子とNA遺伝子はA/duck/Hyogo/1/2016(H5N6)由来、その他の遺伝子はPR8株由来としたウイルス(NIID-001株)をリバースジェネティクス法で作製した。NIID-001株のHA遺伝子については、HAの開裂部位を高病原性の配列から低病原性の配列に改変した。作製したNIID-001株をニワトリの静脈内に接種し、ニワトリに対する病原性が低病原性であることを確認した。また、NIID-001株の遺伝子解析、作製したフェレット感染血清を用いた抗原性と免疫原性の確認、鶏卵での連続継代における遺伝子安定性の検討、トリプシン依存性試験、50%発育鶏卵感染価と50%発育鶏卵致死感染価の測定、フェレットを用いた安全性試験を行なった。

各種試験を終えたNIID-001株は配布可能ワクチン製造候補株としてWHOに報告し、ワクチン製造候補株として承認、登録された。[鈴木康司、有田知子、白倉雅之、渡邊真治、浅沼秀樹、信澤枝里、小田切孝人]

10. NIID-001株のフェレットを用いた安全性確認試験

フェレットを用いてワクチン株候補であるNIID-001株の安全性試験を実施した。WHOの指針に従い、ABSL3実験室内で元株とNIID-001株をそれぞれ6頭のフェレ

ットに経鼻接種した。それぞれの接種群で感染3日後に3頭の解剖を行い、臓器(鼻甲介、肺、気管、脾臓、腸管、脳、嗅球、血液)を採材してウイルス力価を測定した。また、それぞれの接種群の残り3頭は感染14日後まで臨床症状の観察と体重測定を続けた。元株接種群およびNIID-001接種群で臨床症状は見られなかったが、NIID-001接種群では元株接種群と比較して体重減少の軽減が認められた。採材した臓器(鼻甲介、肺、気管、脾臓、腸管、脳、嗅球、血液)のウイルス力価を測定した結果、元株接種群およびNIID-001接種群では、呼吸器(鼻甲介、肺、気管)のみからウイルスが検出されたが、ウイルス力価に有意差は見られなかった。以上の結果から、元株のフェレットにおける病原性は元来低く、ワクチン株候補であるNIID-001株の病原性は元株と同程度か低いことが示された。[有田知子、浅沼秀樹、永田典代*、岩田奈織子*、白倉雅之、渡邊真治、鈴木康司、高橋仁、信澤枝里、小田切孝人: *感染病理部]

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、分与

2018/2019シーズン用ワクチン株を選定するため、候補株を輸入し、SPF卵を用いてマスターストックを増殖後、保存した。[H3N2亜型: A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(NIB-104)、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186)、A/Washington/16/2017(NYMC X-301)、A/Washington/16/2017(NYMC X-301A)、B型: B/Maryland/15/2016、B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69)、B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69A)、B/Colorado/06/2017]

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2株を試験交付、H3N2亜型4株およびB型4株を分与した。ワクチン製造所における増殖性や蛋白収量等の情報は、2018/19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、信澤枝里、小田切孝人]

品質管理に関する業務

1. インフルエンザHAワクチンの力価試験の精度管理及び規格確認

インフルエンザ HA ワクチンは毎年ワクチン株が見直しされるため、ワクチンの国家検定の力価試験として実施されている一元放射免疫拡散(SRD)試験の測定精度が一定の範囲内にあるように毎年確認して調整する必要がある。更に、平成 27 年度からの 4 価ワクチン導入にとともに、生物学的製剤基準の一部改正が実施され、B 型株の SRD 試験方法の実施区分が制定された。このような状況に対応するため、本年度の参照インフルエンザ HA ワクチン（含有ワクチン株：A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)(H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013) を使用して各試験の測定精度、また、各製造所の測定値との乖離についての検討を実施した。なお、本年度は H3N2 株の変更が途中で生じたため、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263) (H3N2) 株に変更になる前の A/Saitama/103/2014 (CEXP002)(H3N2)株を含有した参照インフルエンザ HA ワクチンも準備されたため、同様に評価した。[嶋崎典子、原田勇一、仲山紀子、佐藤佳代子、板村繁之、楠英樹*、持田恵子**、小田切孝人：*血液安全性研究部、**細菌第 2 部]

2. 季節性インフルエンザワクチン製造用候補ウイルス株の品質管理試験の実施

2017-18 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(H1N1)pdm09 亜型 7 株の試験交付株、A(H1N1)pdm09 亜型 4 株、A(H3N2)亜型 1 株の仮交付株について、抗原分析及び HA、NA 遺伝子の遺伝子解析を実施して遺伝的・抗原的安定性を解析し、ワクチン製造用株としての適性を確認した。また、インフルエンザワクチン製造用に試験交付及び仮交付株の無菌試験を実施した。解析結果は、インフルエンザワクチン株選定のための検討会議等を通じて関係各機関と情報を共有した。[原田勇一、佐藤佳代子、河野直子、中村一哉、佐藤 彩、信澤枝里、板村繁之、小田切孝人]

3. 弱毒生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弱毒生ワクチンについて、承認前検査として当該製剤の試験検査（力価試験、弱毒性試験）を実施した。[原田勇一、板村繁之、佐藤佳代子、嶋崎典子、浅沼秀樹、白倉雅之、渡邊真治、有田知子、

小田切孝人]

4. ワクチン株製造施設の運用

パンデミック及びプレパンデミック用のインフルエンザワクチン株の製造施設について、GMP に準拠して運用している。本施設の運用に必要とされている環境モニタリングの実施及び記録の保管、清浄化作業の実施及び記録の保管、昆虫相診断の実施及び対応策の検討などを行った。[佐藤佳代子、仲山紀子、伊木繁雄*、網 康至**、須崎百合子**、板村繁之、小田切孝人：*バイオセーフティ管理室、**動物管理室]

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 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、4 月に香港で開催された 6th Meeting of the WHO Expert Group for GISRS on Surveillance of Antiviral Susceptibility に出席し、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。また 2015 年第 21 週から 2016 年第 20 週に検出された世界各国の 14,330 株のインフルエンザウイルスについて、抗インフルエンザ薬に対する感受性試験の結果を総括した。その結果、耐性株の検出率は 0.8%で、前シーズンの検出率 0.5%からわずかに上昇していた。[高下恵美、小田切孝人]

2. 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 次元抗原性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。[桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、佐藤 彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳、渡辺佳世、渡邊真治、小田切孝人]

3. 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(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。[桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、佐藤 彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳、渡辺佳世、渡邊真治、小田切孝人]

4. 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月にメルボルンおよびWHO ジュネーブ本部で開催されたインフルエンザワクチン株選定会議へ出席し、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。4月にマレーシアで開催された西太平洋・東南アジアナショナルインフルエンザセンター会議に出席、6月にWHO 本部での世界ナショナルインフルエンザセンター会議、7月にロンドンでのWHO インフルエンザ流行予測モデル開発会議、WHO 本部でのナショナルインフルエンザセンター会議・パンデミックインフルエンザ対策(PIP)会議にそれぞれ参加し、インフルエンザサーベイランス強化対策、ワクチンの安定供給に向けた協議、ワクチン株選定法改良に関する協議を行った。

[渡邊真治、小田切孝人]

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

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

6. 国際協力機構（JICA）研修への参画

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

7. 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29年4月12日～13日に香港で開催された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]

8. モンゴル National Influenza Center (NIC) におけるインフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症サーベイランスに関する共同研究

モンゴル NIC、オルホン県、ダルハン・オール県、ホブド県、ドルノド県地方研究所の5か所において、これまで当センターで構築した RT-LAMP 法によるインフルエンザウイルスの亜型同定、ウイルス性呼吸器感染症の検出方法のサーベイランスへの応用を目的とした共同研究を実施した。[中内美名]

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

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

10. 国際協力機構（JICA）研修への参画

JICA の主催する「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」研修に講師として参画し、インフルエンザワクチンの品質管理について講義を行った。[原田勇一]

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

WHO ERL の一員として7月及び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、小田切孝人]

12. WHO 西太平洋地域事務局主催インフルエンザウイルスの分離ならびに性状解析に関するトレーニングワークショップへの参加

平成29年5月27日から6月3日にかけてオーストラリアメルボルンで開催された西太平洋地域ナショナルインフルエンザセンタースタッフを対象にしたインフルエンザウイルスの分離ならびに性状解析に関するトレーニングワークショップに招聘講師として参加し、細胞培養の基本技術に関する講義とウイルス分離、分離株抗原性解析手法の実技指導を担当した。参加各国におけるインフルエンザサーベイランス質的量的拡充に向けて大きく貢献した。[中村一哉]

13. 台湾 CDC 研究者に対するワクチン株候補作製のための技術研修

パンデミックワクチン株作製技術の習得を目的として、2017年12月6～15日の期間、台湾 CDC 職員1名に対し、技術研修を行った。研修では、HA 遺伝子の改変が必要なワクチン株の作製方法、作製したワクチン株の性質を解析するために必要な試験（鶏卵での連続継代における遺伝子安定性の検討、トリプシン依存性試験、50%発育鶏卵感染価と50%発育鶏卵致死感染価の測定、ニワトリにおける低病原性化確認試験、フェレットにおける安全性試験）に関して、講義及び実習を行なった。

[鈴木康司、浅沼秀樹、信澤枝里、小田切孝人]

研修業務

1. 平成29年度所内で実施された各種研修プログラムにおける講義

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

2. 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17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 法および RT-LAMP 法を用いた MERS・インフルエンザ遺伝子検査実習を行った。特に研修では、リアルタイム RT-PCR 法による検査結果の解釈方法やトラブルシューティングに重点を置いた。また、研修では各検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で反映されるように連携の強化が図られた。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二]

3. 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検疫所に対する外部精度評価の実施

主要検疫所14ヶ所に対して、核酸検出検査（リアルタイム RT-PCR 法）によるインフルエンザウイルスの型・亜型診断検査の外部精度評価(EQA)を実施した。各検疫所から送付された結果報告に対して解析を行い、EQA の解析結果を各所に報告した。また、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あると考えられる場合は、トラブルシューティングを実施するように助言し、また、各所のトラブルシューティングに関する質問事項等にも対応して、検査精度の向上を図った。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二]

4. インフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症診断に関する技術指導

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

代、齊藤慎二]

5. モンゴルにおけるインフルエンザおよびウイルス性
呼吸器感染症診断に関する技術指導

モンゴル NIC においてオルホン県、ダルハン・オール
県、ホフド県、ドルノド県地方研究所の技術者に対し、
リアルタイム RT-PCR 法および RT-LAMP 法によるイン
フルエンザウイルスの亜型同定、ウイルス性呼吸器感染
症の検出について技術指導を行った。[中内美名]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1. Nakamura K, Shirakura M, Fujisaki S, Kishida N,
Burke DF, Smith DJ, Kuwahara T, Takashita E,
Takayama I, Nakauchi M, Chadha M, Potdar V,
Bhushan A, Upadhyay BP, Shakya G, Odagiri T,
Kageyama T, Watanabe S. Characterization of
influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from
Nepalese and Indian outbreak patients in early 2015.
Influenza Other Respir Viruses. 11: 399-403, 2017.
2. Gubareva LV, Besselaar TG, Daniels RS, Fry A,
Gregory V, Huang W, Hurt AC, Jorquera PA, Lackenby
A, Leang SK, Lo J, Pereyaslov D, Rebelo-de-Andrade
H, Siqueira MM, Takashita E, Odagiri T, Wang D,
Zhang W, Meijer A. Global update on the susceptibility
of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors,
2015-2016. *Antiviral Res*. 146:12-20, 2017.
3. Imai M, Watanabe T, Kiso M, Nakajima N, Yamayoshi
S, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Yamada S, Ito M,
Sakai-Tagawa Y, Shirakura M, Takashita E, Fujisaki S,
McBride R, Thompson AJ, Takahashi K, Maemura T,
Mitake H, Chiba S, Zhong G, Fan S, Oishi K, Yasuhara
A, Takada K, Nakao T, Fukuyama S, Yamashita M,
Lopes TJS, Neumann G, Odagiri T, Watanabe S, Shu Y,
Paulson JC, Hasegawa H, Kawaoka Y. A highly
pathogenic avian H7N9 influenza virus isolated from a
human is lethal in some ferrets infected via respiratory
droplets. *Cell Host Microbe*. 22:615-626.e8, 2017
4. Yasuhara A, Yamayoshi S, Soni P, Takenaga T,

Kawakami C, Takashita E, Sakai-Tagawa Y, Uraki R,
Ito M, Iwatsuki-Horimoto K, Sasaki T, Ikuta K,
Yamada S, Kawaoka Y. Diversity of antigenic mutants
of influenza A(H1N1)pdm09 virus escaped from
human monoclonal antibodies. *Sci Rep*. 7:17735, 2017.

5. Yokoyama M, Fujisaki S, Shirakura M, Watanabe S,
Odagiri T, Ito K, Sato H. Molecular dynamics
simulation of the influenza A(H3N2) hemagglutinin
trimer reveals the structural basis for adaptive
evolution of the recent epidemic clade 3C.2a. *Front
Microbiol*. 8:584, 2017.
6. Terauchi Y, Sano K, Ainai A, Saito S, Taga Y,
Ogawa-Goto K, Tamura S, Odagiri T, Tashiro M,
Fujieda M, Suzuki T, Hasegawa H. IgA polymerization
contributes to efficient virus neutralization on human
upper respiratory mucosa after intranasal inactivated
influenza vaccine administration. *Hum Vaccin
Immunother*. 14:1351-1361, 2018
7. Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Kawachi S, Furuya H,
Do HT, Kageyama T, Ta TA, Dao NH, Nunoi H, Tran
DM, Le HT, Nakajima N. Pathogen screening and
prognostic factors in children with severe ARDS of
pulmonary origin. *Pediatr Pulmonol*. 52:1469-1477,
2017
8. Kaida A, Iritani N, Yamamoto SP, Kanbayashi D, Hirai
Y, Togawa M, Amo K, Kohdera U, Nishigaki T, Shiomi
M, Asai S, Kageyama T, Kubo H. Distinct genetic
clades of enterovirus D68 detected in 2010, 2013, and
2015 in Osaka City, Japan. *PLoS One*. 12:e0184335,
2017
9. Takahashi H, Nagata S, Odagiri T, Kageyama T.
Establishment of the cross-clade antigen detection
system for H5 subtype influenza viruses using peptide
monoclonal antibodies specific for influenza virus H5
hemagglutinin. *Biochem Biophys Res Commun*.
498:758-763, 2018
10. Shimasaki N, Shinohara K, Morikawa H. Performance
of Materials Used for Biological Personal Protective
Equipment Against Blood Splash Penetration.
Industrial Health. 55:521-528, 2017

11. Kono N, Sun L, Toh H, Shimizu T, Xue H, Numata O, Ato M, Ohnishi K, Itamura S. Deciphering antigen-responding antibody repertoires by using next-generation sequencing and confirming them through antibody-gene synthesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 487:300-306, 2017
 12. Shimasaki N, Nojima Y, Sakakibara M, Kikuno R, Iizuka C, Okaue A, Okuda S, Shinohara K. Advanced Analysis to Distinguish between Physical Decrease and Inactivation of Viable Phages in Aerosol by Quantitating Phage-Specific Particles. *Biocontrol Sci*. 23:7-15, 2018
 13. Lin S, Kono N, Shimizu T, Toh H, Xue H, Numata O, Ato M, Itamura S, Ohnishi K. Distorted Antibody Repertoire Developed in the Absence of Pre-B Cell Receptor Formation. *Biochem Biophys Res Commun*. 495:1411-1417, 2018
 14. Fujii T, Jounai K, Horie A, Takahashi H, Suzuki H, Ohshio K, Fujiwara D, Yamamoto N. Effects of heat-killed *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM 5805 on mucosal and systemic immune parameters, and antiviral reactions to influenza virus in healthy adults; a randomized controlled double-blind study. *J Funct Foods*. 35:513-521, 2017
 15. Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhashi K, Takai M, Kamachi K, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. Evaluation of marker gene expression as a potential predictive marker of leukopenic toxicity for inactivated influenza vaccines. *Biologicals*. 50:100-108, 2017
 16. Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhashi K, Takai M, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. Modeling for influenza vaccines and adjuvants profile for safety prediction system using gene expression profiling and statistical tools. *PLoS One*. 13:e0191896, 2018
 17. Hampson A, Barr I, Cox N, Donis RO, Siddhivinayak H, Jernigan D, Katz J, McCauley J, Motta F, Odagiri T, Tam JS, Waddell A, Webby R, Ziegler T, Zhang W. Improving the selection and development of influenza vaccine viruses - Report of a WHO informal consultation on improving influenza vaccine virus selection, Hong Kong SAR, China, 18-20 November 2015. *Vaccine*. 35(8):1104-1109, 2017
2. 和文発表
 1. 高下恵美. オセルタミビル・ペラミビル耐性インフルエンザの状況と対処法は？ インフルエンザ診療ガイド 2017-18. 187-190, 2017
 2. 高下恵美. 第 5 回国際抗ウイルス薬会議(5th isirv-Antiviral Group Conference)参加報告. インフルエンザ. 61:56-57, 2017
 3. 渡邊真治. インフルエンザ -サーベイランスからワクチン株選定まで-. 日本臨床内科医会誌. 32:789-794, 2018
 4. 今井正樹、渡邊真治、河岡義裕. 季節性インフルエンザウイルスの抗原変異株の出現予測. インフルエンザ. 61:31-34, 2017
 5. 渡邊真治、今井正樹. 鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染と伝播の可能性. インフルエンザ. 62:37-42, 2018
 6. 中村一哉、藤崎誠一郎、高下恵美、白倉雅之、岸田典子、桑原朋子、佐藤 彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、菅原裕美、渡辺佳世、渡邊真治、小田切孝人、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ. 2016/17 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. 38:212-218, 2017
 7. 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳、渡邊真治、小田切孝人、2016 年度インフルエンザ感受性調査・予防接種歴調査実施都道府県. 2015/16 シーズンのインフルエンザ予防接種状況および 2016/17 シーズン前のインフルエンザ抗体保有状況—2016 年度感染症流行予測調査より. 病原微生物検出情報. 38:221-223, 2017
 8. 影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二、小田切孝人. 鳥・ブタインフルエンザウイルスのヒト感染事例の状況について. 病原微生物検出情報. 38:218-220, 2017
 9. 小田切孝人. インフルエンザの疫学と我が国のワ

クチン株選定 臨床と微生物
44(6):685-690, 2017

10. 小田切孝人. 今冬 (2017/18 シーズン) のインフルエンザワクチンに起こったこと Bio Clinica 33 (3): 225-231, 2018

II. 学会発表

1. 国際学会

1. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Watanabe S, Odagiri T, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of influenza A(H1N1)pdm09 viruses exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan. 5th ISIRV-AVG Conference. Shanghai, China. June 2017
2. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Yokoyama M, Sato H, Watanabe S, Odagiri T. Growth capabilities of influenza A(H1N1)pdm09 viruses exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir. 6th ESWI Influenza Conference. Riga, Latvia. September 2017
3. Maeyama J, Suzuki F, Ozeki Y, Asanuma H, Matsumoto S, Iho S, Yamamoto S. Study of a novel CpG oligodeoxynucleotide to promote vaccine ability against TB or Flu. International Society for Vaccines Annual Congress, Paris, October 2017
4. Asanuma H, Tateishi K, Hasegawa H, Yamamoto N, Sato K, Maeyama J, Iho S, Yamamoto S, Odagiri T, Fujihashi K. Enhancement of protective mucosal immunity against influenza virus infection by a combination of Influenza antigen plus G9.1 (CpG ODN) as nasal adjuvant. International Congress of Mucosal Immunology, Washington, July 2017

2. 国内学会

1. 高下恵美. 日本国内で検出されたオセルタミビル・ペラミビルに強い耐性を示すインフルエンザウイルス. 第91回日本感染症学会. 新宿. 2017年4月
2. 高下恵美, 小川理恵, 藤崎誠一郎, 白倉雅之, 三

浦秀佳, 中村一哉, 岸田典子, 桑原朋子, 佐藤 彩, 秋元未来, 渡辺佳世, 渡邊真治, 小田切孝人. 日本国内で検出された A(H1N1)pdm09 二重耐性変異ウイルスの性状解析. 第31回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. 静岡. 2017年6月

3. Takashita E, Shirakura M, Fujisaki S, Nakamura K, Kuwahara T, Kishida N, Watanabe S, Odagiri T. Antiviral susceptibility of avian influenza A(H7N9) viruses isolated from humans. 第65回日本ウイルス学会. 大阪. 2017年10月.
4. 高下恵美. 発育鶏卵における臨床検体からのインフルエンザウイルス分離. 7th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄. 2018年1月
5. 桑原朋子, 高下恵美, 藤崎誠一郎, 白倉雅之, 中村一哉, 岸田典子, 高橋仁, 三浦秀佳, 秋元未来, 小川理恵, 佐藤 彩, 菅原裕美, 鈴木典子, 渡邊真治, 小田切孝人. 鶏卵で継代培養した埼玉株のNAに特徴的に認められたアミノ酸置換. 第31回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. 静岡. 2017年6月
6. Kuwahara T, Takashita E, Shirakura M, Fujisaki S, Nakamura K, Kishida N, Takahashi H, Akimoto M, Miura H, Ogawa R, Sato A, Sugawahara H, Suzuki N, Watanabe S, Odagiri T. Characterizations of cell-derived and egg-passaged A/Saitama/103/2014 virus. 第65回日本ウイルス学会. 大阪. 2017年10月
7. Watanabe S, Nakamura K, Kishida N, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Sato A, Akimoto M, Miura H, Ogawa R, Sugawara H, Watanabe K, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamasaki M, Odagiri T, The Influenza Surveillance Group of Japan. Characterizations of circulating influenza viruses in the 2016/17 season and vaccine viruses for the 2017/18 season. 第65回日本ウイルス学会. 大阪. 2017年10月
8. 渡邊真治. インフルエンザ ～サーベイランスからワクチン株選定まで～. 日本臨床内科医学会. 大阪. 2017年10月
9. 中内美名, 大場邦弘, 高山郁代, 齊藤慎二, 影山

- 努. C型インフルエンザの簡易ウイルス遺伝子検出法の構築とその臨床現場への応用. 第120回日本小児科学会学術集会. 東京. 2017年4月
10. 大場邦弘、高山郁代、仙波晶平、中内美名、米川俊広、瀬川雄司、渡辺英俊、納富継宣、影山 努. インフルエンザとRSウイルスを同時検出可能なマイクロ流路チップを用いた direct リアルタイム RT-LAMP 法による POC 検査法の開発. 第91回日本感染症学会総会・学術講演会. 東京. 2017年4月
 11. 大場邦弘、高山郁代、仙波晶平、高橋 仁、中内美名、米川俊広、瀬川雄司、渡辺英俊、納富継宣、影山 努. Direct real-time RT-LAMP 法を用いた multiplex POC 検査法の開発と地域感染症リアルタイムサーベイランスへの応用. 第31回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. 静岡. 2017年6月
 12. 大場邦弘、木屋啓一、齊藤慎二、高山郁代、高橋 仁、中内美名、仙波晶平、米川俊広、瀬川雄司、渡辺英俊、納富継宣、影山 努. Direct real-time RT-LAMP 法を用いた multiplex POC 検査法の検証とリアルタイム病原体サーベイランスへの応用. 第49回日本小児感染症学会総会・学術集会. 金沢. 2017年11月
 13. 久保英幸、改田 厚、塩見正司、寺田晃洋、浅井定三郎、園府寺美、梶 勝史、高山郁代、中内美名、高橋 仁、齊藤慎二、影山 努. マイクロ流路チップを用いた direct リアルタイム RT-LAMP 法 (POC 遺伝子検査システム) による呼吸器病原ウイルス遺伝子の検出に関する検討. 第50回日本小児呼吸器学会. 東京. 2017年11月
 14. Shirato K, Semba S, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, Matsuyama S. Development of Fluorescent Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) using Quenching probes for the detection of the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. 第65回日本ウイルス学会. 大阪. 2017年10月
 15. 齊藤慎二、高橋 仁、永田志保、小田切孝人、影山 努. H7 HA 特異的なモノクローナル抗体を用いた H7N9 インフルエンザウイルス迅速診断系の構築. 第65回日本ウイルス学会学術集会. 大阪. 2017年10月
 16. 佐野 芳、齊藤慎二、鈴木忠樹、相内 章、小谷 治、Elly van Rie、田畑耕史郎、藤井 信、高橋宜聖、後藤希代子、長谷川秀樹. Enhancement of anti-viral potencies of an intranasal Influenza vaccine derived broadly neutralizing antibody by IgA polymerization. 第65回日本ウイルス学会学術集会. 大阪. 2017年10月
 17. 佐野 芳、齊藤慎二、鈴木忠樹、上野智規、多賀祐、Elly Van Riet、相内 章、田畑耕史郎、藤井 信、高橋宜聖、後藤希代子、長谷川秀樹. モノクローナル多量体型 IgA 交代作製法を用いた分泌型 IgA 抗体の抗インフルエンザウイルス活性の解析. 第21回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017年12月
 18. 鈴木忠樹、寺内芳彦、相内 章、齊藤慎二、多賀祐喜、大原有樹、山口喜之、小田切孝人、田代真人、後藤希代子、長谷川秀樹. 経鼻不活化インフルエンザウイルス接種により誘導される粘膜抗体の性状解析. 第21回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017年12月
 19. 影山 努. インフルエンザ検査の精度管理と鳥インフルエンザウイルスの流行状況について. 平成29年度希少感染症診断技術研修会. 東京. 2018年2月
 20. 佐藤佳代子、浅沼秀樹、阿戸 学、田代真人、小田切孝人、板村繁之. TLR アゴニストは抗体の avidity の増強または ADCC 抗体の産生誘導によりインフルエンザスプリットワクチンの防御効果を増強する. 第21回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017年12月
 21. Sato K, Ato M, Asanuma H. TLR agonists enhance avidity and ADCC activities of virus-specific antibodies upon a booster immunization of influenza vaccines. 第46回日本免疫学会学術集会. 仙台. 2017年12月
 22. 佐藤佳代子、浅沼秀樹、小田切孝人、田代真人、板村繁之. ヒト由来マクロファージ様細胞の活性化能に基づくインフルエンザワクチンの免疫原性定量法の構築. 第31回インフルエンザ研究者交流

- の会シンポジウム、静岡、2017年6月
23. 鈴木康司、高橋 仁、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里。細胞培養インフルエンザ製造候補株の検討。第21回日本ワクチン学会学術集会。福岡。2017年12月
24. Hamamoto I, Takahashi H, Mizuta K, Nishimura H, Sato K, Odagiri T, Nobusawa E. Evaluation of the virus clearance capacity of NIID-MDCK cells. 第65回日本ウイルス学会学術集会。大阪。2017年10月
25. Takahashi H, Fujimoto T, Horikoshi F, Uotani T, Okutani M, Hamamoto I, Odagiri T, Nobusawa E. Development of the cell-culture candidate vaccine viruses and quality evaluation method for production of cell-based influenza vaccines. 第65回日本ウイルス学会学術集会。大阪。2017年10月
26. 浜本いつき、高橋 仁、水田克巳、佐藤 光、西村秀一、小田切孝人、信澤枝里。細胞培養季節性インフルエンザワクチン製造用種ウイルスの元株分離用 NIID-MDCK 細胞の迷入ウイルス排除能の検討。第21回日本ワクチン学会学術集会。福岡。2017年12月
27. 高橋 仁、藤本貴男、堀越史朗、魚谷多恵、奥谷三慧、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里。細胞培養インフルエンザワクチンの種株作製および品質評価法の検討。第21回日本ワクチン学会学術集会。福岡。2017年12月
28. 信澤枝里。細胞培養インフルエンザワクチン実用化への取り組み。7th Negative Strand Virus-Japan。沖縄。2018年1月
29. Asanuma H, Tateishi K, Sato K, Hasegawa H, Maeyama J, Iho S, Yamamoto S, Fujihashi K, Yamamoto N. Essential roles for protective SIgA Abs induced by nasal G9.1 combined influenza VLP vaccine. 第46回日本免疫学会学術集会。仙台。2017年12月
30. 立石恒一朗、山本典生、佐藤佳代子、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、小田切孝人、藤橋浩太郎、浅沼秀樹。2つの感染モデルを用いた CpG-ODN G9.1 添加経鼻インフルエンザワクチンの有効性。第21回日本ワクチン学会学術集会、博多、2017年12月
31. 相内 章、鈴木忠樹、川口 晶、池田千将、泉地恭輔、岸田典子、浅沼秀樹、渡邊真治、田村慎一、小田切孝人、田代真人、長谷川秀樹。不活化インフルエンザワクチン経鼻接種により誘導される野外株ウイルスに対する抗体応答。第21回日本ワクチン学会学術集会。博多。2017年12月
32. 水上拓郎、佐々木永太、百瀬暖佳、浅沼秀樹、蒲池一成、石井 健、浜口 功。ヒト PBMCs を用いたインフルエンザワクチンの in vitro 安全性評価法の開発とヒト化マウスによる in vivo モデルの構築。第21回日本ワクチン学会学術集会。博多。2017年12月
33. 宮崎耀基、高橋公正、氏家 誠、相内 章、長谷川秀樹、永田典代、小田切孝人、田代真人、浅沼秀樹。マウスに馴化したインフルエンザ A(H7N9) の病原性は自然免疫応答と逆相関する。第65回日本ウイルス学会学術集会。大阪。2017年10月