

3. ウイルス第三部

部長 田代 真人

概要

当部は村山支所に配置され、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、レファランス業務及び国際協力である。

人事異動では、平成18年4月1日付けで關文緒(第3室研究員)、渡邊理恵(第5室研究員)が採用となり、氏家誠研究員が第5室から第1室に配置となった。また、8月1日付で駒瀬勝啓が第2室長に就任し、平成19年2月16日付で松山州徳が米国留学から帰国して第5室研究員に復職した。また、3月1日付で第4室久保田耐主任研究員が米国留学から帰国した。一方、平成19年3月31日付で、渡邊理恵(第5室研究員)が退職した。

当部は、インフルエンザ、風疹、麻疹、おたふくかぜの各ワクチン、 α -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、ワクチン国家検定のSOP等の改定、標準品の整備等を進め、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に必要な改善を行った。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、対応策を提言した。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る努力を続けている。

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、感染症情報センターと協力して進め、流行ウイルスの抗原・遺伝子解析と流行予測を行い、厚労省の依頼に応じて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ラ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ット、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バーシ・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レファラ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、また、WHO、世界銀行、JICA等の依頼に応じて、多くのアジア各国への技術指導、研修を実施した。

業績

調査・研究

・インフルエンザウイルスに関する研究

1. インフルエンザウイルス遺伝子の大量解析に関するNITEとの共同事業

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拡大に伴い、薬剤耐性ウイルスの出現が問題となっており、薬剤耐性株のモニタリングおよび薬剤耐性マーカー解明に、流行株の継続的な遺伝子解析が非常に重要である。そこで昨年度に引き続き、独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)との共

同事業により、本年度は 2005/06 シーズン（2005 年 10 月～2006 年 9 月）に分離された A /H1 型 234 株、A/H3 型 356 株、B 亜型 163 株および 2006/07 シーズン（2006 年 10 月～2007 年 2 月）に分離された A /H1 型 35 株、A/H3 型 67 株、B 亜型 51 株の HA 遺伝子、NA 遺伝子、M 遺伝子について解析した。これまでに報告されたオセルタミビル耐性に変異した NA 遺伝子を持つウイルス株は、2005/06 シーズンに分離された A /H1 型で 4 株、B 亜型で 1 株見つかったが、2006/07 シーズンに分離された株からは見つからなかった。一方、アマンタジン耐性に変異した M 遺伝子を有している株の割合は、2005/06 シーズンに分離された A /H1 型で約 26%、A/H3 型で約 84%、2006/07 シーズンに分離された A /H1 型で約 86%、A/H3 型で約 70% であり、国内でもアマンタジン耐性株の流行が広がっている事が明らかになった。一方、オセルタミビル耐性株の流行は 2005/06 シーズンに 5 株見つかったのみで 2006/07 シーズンは見つからない事から、国内のオセルタミビル耐性株の流行は、アマンタジン耐性株ほど広がっていない事が示唆された。[影山努、小淵正次、田代真人、堀川博司・細山哲・矢代勲・藤田信之(独立行政法人製品評価技術基盤機構)、小田切孝人]

2. インフルエンザワクチンの臨床評価研究

ワクチン接種により得られる抗体に対する流行株の交叉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上で重要である。ウイルス第 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、流行株に対する交叉反応性を評価した。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同様の評価を行い、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、高井弘美、齋藤玲子・鈴木宏(新潟大学医学部公衆衛生学)、柏木征三郎(福岡県赤十字血液センター)、小田切孝人、田代真人]

3. 我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 年末から東アジアの家禽で発生した A/H5N1 型高病原性鳥インフルエンザの大流行は、中近東、ヨーロッパ、アフリカへと拡大した。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、渡り鳥によって高病原性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。本研究では、高病原性鳥インフルエ

ンザウイルスの国内侵入を監視する目的で、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。西日本の湖沼において採取された野生水禽の糞便 973 検体を発育鶏卵または MDCK 細胞に接種したところ、13 株の鳥インフルエンザウイルスが分離された。全ての分離株について抗原性状と遺伝子性状を解析したところ、いずれの分離株も低病原性の鳥インフルエンザウイルスであることが確認された。[今井正樹、二宮愛、氏家誠、千々和勝己(福岡県保健環境研究所)、島津幸枝(広島県立総合技術研究所保健環境センター)、山岡政興(兵庫県立健康環境科学研究所)、中村雅子(福井県衛生環境研究センター)、石崎徹(京都保健環境研究所)、田代真人、小田切孝人]

4. 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(H5N1-HPAIV)は、現在も東南アジア、東アジア、中東、アフリカ地域を中心に流行が続いている。H5N1-HPAIV の流行株は、抗原的あるいは HA 遺伝子の違いに基づいて大きく 2 つのクレードに分類されており、2006 年からはクレード 2 はさらに 3 つのサブクレードに細分された。2004 年ベトナムで主に流行したクレード 1、2005 年以降インドネシアで主に流行しているクレード 2 サブクレード 1(クレード 2.1)、中国青海湖、中東、アフリカ、ヨーロッパ等の地域で流行しているクレード 2.2、主に中国南部で流行しているクレード 2.3 である。ヒトでの感染例も家禽での流行と平行して、増加の一途をたどり、新型インフルエンザの発生が懸念されているが、昨年度構築した検出系で新たに出現したクレード 2.3 も含め、全てのクレードに対して H5N1-HPAIV を検出できるのかどうか臨床検体を用いて確認を行った。その結果、全てのクレードの H5N1-HPAIV の HA 及び NA 遺伝子の特異的かつ高感度に捉えることができる検査系の構築ができた。[影山努、今井正樹、二宮愛、氏家誠、田代真人、小田切孝人]

5. 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 年に分離されたクレード 1 の強毒株に由来するプロトタイプワクチン株 N1BRG-14 が、近年の流行株であり抗原性の異なるクレード 2 のウイルスに対しても有効か否かを検討した。(財) 阪大微生物病研究会が N1BRG-14 から作製したアルミニウムアジュバント添加ホルマリン不活化全粒子ワクチンをマウスに皮下接種して免疫し、強毒のクレード 2 ウイルス (A/Indonesia/6/05、A/Turkey/12/06) に対する血中抗体価を測定した。さら

に、免疫したマウスに強毒株を感染させ、防御効果を調べた。その結果、クレード1のワクチン株であるNIBRG-14で免疫したマウスにおいても、ホモと比較すると力価は低いが、クレード2ウイルスに対する中和抗体が誘導された。また、強毒のクレード2ウイルスの攻撃に対して、抗体が検出限界以下だった個体を含め、ワクチン接種した全てのマウスが生残した。以上のことから、クレード1のプロトタイプワクチンNIBRG-14は、抗原性の異なるクレード2ウイルスの流行時にも使用できる可能性が示唆された。[二宮愛、今井正樹、多田善一（財）阪大微生物病研究会）、田代真人、小田切孝人]

6. ヒト用新型インフルエンザワクチン製造株作製のための細胞株の有用性に関する研究

人に接種でき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、高度な安全性が確保されたワクチン製造用細胞株が必要である。我々は既に、American Type Culture Collection から入手した LLC-MK2 細胞は安全性が高く、ヒト用ワクチン製造用細胞株として有望であることを報告している。更に我々は、この細胞を用いた RG システムで、A/H5 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスから弱毒化ワクチン株を作製できることを報告している。今回は、LLC-MK2 細胞の RG システムがヒトシーズンインフルエンザワクチン株の作製にも応用できるどうかを検討した。その結果、ヒトの A/H3 亜型流行株からワクチン製造株を効率良く作製できることが分かった。また、B 型ウイルスの作製にも利用できることが分かった。[今井正樹、氏家誠、田代真人、小田切孝人]

7. 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に起因する新型インフルエンザの出現に備えるために、試作ワクチン株を作製した。2006 年にトルコ患者から分離された A/Turkey/12/2006 (H5N1) ウイルスを基にリバースジェネティクス技術を用いて弱毒化組み換えウイルスを作製し、その増殖性および抗原性を調べた。その結果、このウイルスは発育鶏卵で効率良く増殖し、その抗原性は強毒型の野生株と同じであることが分かった。[今井正樹、二宮愛、氏家誠、影山努、望月菊、小田切孝人、田代真人]

8. 国家備蓄用 H5N1 プロトタイプワクチン候補株の増殖性の検討

高病原性鳥 A/H5N1 型インフルエンザウイルスに起因した新型インフルエンザによる世界的大流行が起こる可

能性が高くなったことから、国の新型インフルエンザ対策の一環として H5N1 ワクチンの備蓄が進められている。我が国では、WHO が推奨する H5N1 ワクチンとして NIBRG-14、NIBRG-23 及び Indonesia-5 の 3 株を備蓄ワクチン候補株として確保している。ワクチンの製造は孵化鶏卵を用いて行われるため、H5N1 備蓄ワクチン株の選定材料の一つとして孵化鶏卵での増殖性が重要となる。我々は、これらの H5N1 ワクチン候補株の孵化鶏卵での増殖性を検討するためウイルス感染価（EID₅₀）の測定及びウイルス蛋白質収量を調べた。この結果、Indonesia-5、NIBRG-14、NIBRG-23 の順に高い増殖性を持つ事が明らかとなった。これらの結果は、国家備蓄ワクチン株選定の判断材料として活用された。[氏家誠、今井正樹、二宮愛、影山努、小淵正次、板村繁之、小田切孝人、田代真人]

9. 高病原性 A/H5N1 型鳥インフルエンザウイルスの性状解析

2006 年にインドネシアの国立衛生研究所から送付された H5N1 インフルエンザ疑いの 24 検体から、MDCK 細胞を用いてウイルス分離を行い 6 株の H5N1 ウイルスを分離した。この分離株について、抗原解析を行ったところ、抗原性は WHO が推奨するプロトタイプワクチン株 (A/Indonesia/5/2005) と類似していることがわかった。このことから、2006 年にインドネシアで流行した H5N1 ウイルスは 2005 年のプロトタイプワクチン株と比べて抗原性に大きな変化がない事が示唆された。[氏家誠、今井正樹、影山努、二宮愛、小淵正次、板村繁之、小田切孝人、田代真人]

10. 新型インフルエンザ対策ガイドライン策定への参画

高病原性 A/H5N1 型鳥インフルエンザウイルス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、わが国においても新型インフルエンザ対策ガイドラインの策定を急ピッチで行い、今年度はフェーズ 4 以降のガイドラインの策定が行われた。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、抗インフルエンザ薬および国家備蓄プレパンデミックワクチン、パンデミックワクチンの接種実施時期の設定、接種対象者の優先順位等に関するガイドライン作成に協力した。また、医療機関における診断検査のためのガイドライン作成にも協力した。[小田切孝人、田代真人]

11. 孵化鶏卵高増殖タイプワクチン株の開発

インフルエンザウイルス H5N1 ワクチン株は、孵化鶏卵で高増殖する A/PR/8/34 (PR8) 株をバックボーンとするリバースジェネティクス(RG)技術によって作製される。WHO の推奨する H5N1 プロトタイプワクチン株(NIBRG-14) は、孵化鶏卵における増殖効率が悪く、必ずしもワクチン製造に適していない。一方、このワクチン株の増殖能は、そのバックボーンである PR8 株(NIBSC-PR8) の NS 遺伝子を別の PR8 株(UW-PR8) の NS 遺伝子に置換することで、改善される可能性が示唆された。そこで、本研究では、H5N1 ワクチン製造に適した PR8 株を確立するために、3 種類の PR8 株(NIBSC-PR8、UW-PR8、NIID-PR8) から NS 遺伝子をクローニングし、それぞれの NS 遺伝子を持つ PR8 株を作製した。孵化鶏卵における増殖能をウイルス感染価及び蛋白質収量で検討したところ、3 株間に有為な差は見られず、何れのウイルスも孵化鶏卵で良く増えることが分かった。今後は、それぞれの NS 遺伝子を持つ PR8 株と H5N1 株とのリアソータントウイルスを作製し、それらの増殖性を比較する予定である。[氏家誠、今井正樹、二宮愛、田代真人、小田切孝人]

12. 新型インフルエンザワクチン接種者の血清抗体の交差反応性の解析

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の開発は緊急の課題であり、早期の認可を目指してワクチン製造所と協力してアラム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。現在世界的な規模で流行して新型インフルエンザの可能性の高い高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 ウイルスには様々な流行ウイルスが認められ、それらの抗原性は多様であり特定のウイルス株によって製造されたワクチンの交差反応性はワクチン開発において重要な課題のひとつである。そこで、第 1 相臨床試験に参加されたワクチン接種者から同意の得られた方の血清についてワクチン株とそれとは遺伝的、抗原的に異なるワクチン候補株 2 株について中和抗体価を測定した。抗原性の異なるウイルス株についても交差反応性は認められたがその抗体価はワクチン株に対する抗体価と比較して低い値であり、ウイルス株によって異なる交差反応性を示した。これらの交差反応性のウイルス感染に対する防御効果については今後の検討が必要である。[板村繁之、河野直子、細菌製剤協会、小田切孝人、田代真人]

13. 新型インフルエンザワクチン株製造のための GMP 準拠施設の運用に関する調査

平成 19 年度完成予定のワクチン株製造施設の建設に伴い、施設の GMP に準拠した運用のために必要なワクチン株製造のための工程、品質管理方法、設備基準等について文献や海外の同様の施設からの情報を収集し調査した。それらの情報に基づいて、GMP に則した運用を実施するために基準書、標準手順書などの法令等で定められた文書整備を進めている。[板村繁之、今井正樹、二宮愛、氏家誠、篠原克明(バイオセーフティ管理室)、網康至(動物管理室)、小田切孝人、田代真人]

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イオンチャンネル蛋白質 BM2 は、86 個のアミノ酸残基(アミノ酸 24-109 番目)から成る細胞質領域を持っている。今回我々は、ウイルス増殖過程における BM2 蛋白質細胞質領域の役割を明らかにするために、細胞質領域のカルボキシル末端に変異を導入したウイルスを作製し、その性状を野生株と比較した。その結果、細胞質領域の 86 番目から 97 番目のアミノ酸がウイルスの感染性粒子形成にとって重要であることが分かった。[今井正樹、二宮愛、小田切孝人]

15. B 型インフルエンザウイルス HA 蛋白質の脂肪酸付加に関する研究

B 型インフルエンザウイルスの HA 蛋白質(BHA)は膜融合活性及び受容体結合能を持ちウイルス感染において重要な働きを持つ。BHA の細胞質内領域には高度に保存された 2 つの脂肪酸付加部位が存在しパルミチン酸が付加する。我々は、BHA の脂肪酸付加が感染性ウイルス粒子形成にどのような影響を与えるかを明らかにするために、脂肪酸付加部位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。この結果、脂肪酸付加部位を欠損した変異体は野生株に比べて MDCK 細胞上で感染価の低下、プラークサイズの減少及び増殖速度の低下が観察された。一方、BHA を恒常的に発現する MDCK 細胞では、これらの変異ウイルスの感染価、プラークサイズ及び増殖速度は大きく改善された。これらの事から、BHA の脂肪酸付加がウイルス増殖に重要な働きを持つ事が示唆された。[氏家誠、今井正樹、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(継続)

診断キットや検査会社の精度を管理するための風疹

標準パネル血清を整備することを目的として、風疹罹患
者、ワクチン接種者 88 人からインフォームドコンセ
ントを得て血清を収集し、HI 法、EIA 法、中和法で風
疹抗体価を測定した。HI 抗体価と EIA 法による国際標準
単位 (IU) 抗体価は良く相関し、両抗体価で抗体価の変換
が相互に可能であると考えられた。一方、中和抗体価と
HI 抗体価、あるいは IU 抗体価間には強い相関はなかつ
たが、相関性は観察された。今後、これらの情報を基に
収集した血清からパネル血清の選択を行う。[駒瀬勝
啓、大槻紀之、海野幸子、堀内善信(細菌第二部)、門澤
和恵]

2. ワクチン製造株の品質管理に関する研究

シードロットシステムはワクチン製造用株と製造承認
株の同等性を担保するシステムであるが、ウイルスは複
数のクローンの集合体であり、また、容易に変異するこ
とから、許容された継代数内でも変異する可能性がある。
風疹ワクチンの製造用株の安定性を検証するために、製
造各社の製造開始当初のロットと現在のロットでの構造
タンパク遺伝子の塩基配列を比較した。T0-336 株は変異
が見られず、高橋、松葉株は製造当初の population 比率
が変化していると想像される変異が見いだされた。また、
松浦株では 3 カ所の変異があった。これらから遺伝子解
析はワクチンの品質管理に有用であると考えられた。
[大槻紀之、阿保均、門澤和恵、駒瀬勝啓]

3. 風しんワクチン株の全塩基配列の解析

風疹ウイルスワクチン株、高橋株と松浦株、および松
浦株の親株の全ゲノム塩基配列を決定した。塩基配列の
決定は RT-PCR 法で増幅した遺伝子断片をダイレクトシ
ークエンスした。ゲノム全長はそれぞれ 9762 塩基であ
り、松浦株とその親株との差は塩基配列で 48 塩基、その
うちアミノ酸置換を伴う変異は、構造蛋白質内に 9、非
構造蛋白質内に 10 であった。これらの情報はワクチンの
品質管理や風疹ウイルスの病原性発現機構の解析に有用
である。[大槻紀之、阿保均、門澤和恵、坂田真史・中山
哲夫(北里大学)、駒瀬勝啓]

・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他の
細胞株と比較して Vero/hSLAM 細胞でより良好な成績を
得た。また同一検体から Vero/hSLAM および B95a 細胞
で得られた麻疹ウイルスの野生株の 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、培養条件の簡
略化、MR ワクチンの力価試験等への応用、各施設間
における手技の標準化なども検討している。[齋藤義弘(慈
恵会医科大学)、菅井敏行、關文緒、沼崎啓、田代真人]

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

有効な麻疹抑制対策の実行のためには安全で有効性の
高いワクチン開発の開発・導入が不可欠である。またウ
イルス学的および遺伝子学的特性に基づいたワクチンの
評価および品質管理と安全性に関する科学的監視体制の
確立も重要である。現在わが国で市販されている弱毒生
麻しんワクチンの最終製品はニワトリ胚培養細胞で増殖
したウイルスを含む培養上清から作られている。現状の
製造過程ではウシ血清以外にも多くの動物由来成分の含
有が認められるが、将来的にはヒト由来細胞の組織培養
系による麻しんワクチン製造も必要なものと考えられる。
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。Dispase 処
理後の無血清培地添加の条件下では通常ウシ胎児血清
添加の条件下よりも著しい付着細胞数の減少を認めた。
Dispase 処理後の無血清培地添加の条件下では 8 日目で
1.0 log の力価の低下が認められた。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と判断された。[齋藤義弘
(慈恵会医科大学)、堤裕幸(札幌医科大学)、沼崎啓]

3. 麻しん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

麻しん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る。現
在わが国で市販されている麻しんワクチンは AIK-C 株、
Schwarz-FF8 株、CAM 株由来であり、ニワトリ胚細胞 (CEF)
で増殖させた麻疹ウイルスを含む培養上清を元に製造さ

れている。麻疹ワクチンウイルスのHおよびN遺伝子配列の変化について検討した結果ではN遺伝子に多くの変化が認められたことから、N遺伝子配列が遺伝子学的診断に有用であるものと判断された。これらの結果からワクチン株品質管理における問題点が明らかとなった。

[關文緒、菅井敏行、齋藤義弘(慈恵会医科大学)、沼崎啓]

・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6年後に右耳下腺腫脹を訴えたケースである。ムンプスウイルス野生株が分離され、ワクチンによる免疫が低かったために野生株に感染したと判断した。2例目は、ワクチン接種29日後に左耳下腺腫脹を訴えたケースであり、ムンプスウイルスワクチン株が分離された。ワクチンの副反応と解釈した。3例目はワクチン接種後18日目に右耳下腺腫脹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。[加藤篤、木所稔、名木田章(岡山県倉敷市水島中央病院)、田代真人]

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

同一の親株から分離されながら中枢神経病原性の異なるムンプスウイルス株Y125とY213の中枢神経病原遺伝子を特定するためには、ウイルスリバーシジェネティクス系の確立が必須である。その技術的基盤となるレポーター遺伝子を組み込んだミニレプリコンを構築した。ミニレプリコンプラスミドを、NP、P、L遺伝子を発現するヘルパープラスミドと共に細胞にトランスフェクトしたところ、高いレポーター活性が検出され、ミニレプリコンに由来するミニゲノムが複製、転写、翻訳の各段階を忠実に再現したことが証明された。ヘルパープラスミドの混合モル比は検討した条件内においてはNP:P:L=2:1:1がベストであり、センダイウイルスの結果と一致した。ミニレプリコンのレポーター活性を指標とした温度感受性試験ではY125株に由来するNP、P、Lのいずれの遺伝子にも温度感受性との明確な関連性は見いだせなかった。Y125株に由来するL遺伝子内open reading frame中の1塩基挿入による274アミノ酸の欠失はLの機能に影響しないことが示唆された。[木所稔、加藤篤、齋加志津子(千葉県衛生研究所)、田代真人]

3. ムンプスウイルス、おたふくかぜ生ワクチンの神経病原性評価に関する研究

ムンプスウイルスの神経病原性を評価できる系を検討し、無菌性髄膜炎発生頻度の低いワクチンの開発、あるいは既存ワクチンの安全性評価に役立てることを目的とした。今回、新たにReyes-Leyvaらによるヒト神経芽腫由来細胞SH-SY5Yでのムンプスウイルスの増殖性を指標にした培養細胞レベル評価系が有用か否かを検討した。ラットでは高い病原性を示すUrabe M3株と低い病原性を示すUrabe M5株をSH-SY5Y細胞に接種し、ウイルスの増殖性を調べた。ところが、SH-SY5Y細胞での増殖性に有意な差は認められず、ヒトやラットでの神経病原性の程度とSH-SY5Y細胞での増殖性の間に相関関係は認められなかった。[加藤篤、木所稔、永田典代(感染病理部)、齋加志津子(千葉県衛生研究所)、村木優子(阪大微研会)、田代真人]

4. 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

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鶏胚由来初代繊維芽細胞にムンプスウイルスワクチン株を接種することによって製造される。工程中の動物由来物質の使用はそれらに由来する感染性因子が製剤に迷入する危険を伴う。今回、生物学的製剤基準で定められている5代の枠内克つ製造条件に近い低感染価でワクチンウイルスを継代した場合に、ウイルスに如何なる変化が現れるかをF、HN遺伝子を含むウイルスゲノムの約1/4にあたる領域の塩基配列で確かめた。その結果、その変化の度合いはワクチン株により異なり、まったく遺伝子変化を起こさない株がある一方で無血清培地でのみアミノ酸変化を伴う塩基置換を起こす株がある事が分かった。特定の条件と株によっては無血清培地が使用可能であることが示された。[加藤篤、木所稔、田代真人]

5. おたふくかぜ生ワクチン製造株の品質管理に関する研究

おたふくかぜ生ワクチンは鶏胚由来初代繊維芽細胞(CEF)にムンプスウイルスワクチン株を接種することによって製造される。生物学的製剤基準では、5代の枠内で継代することが許されているが、その間にどれほど株が安定なのかを検討した例は少ない。そこで、製造条件に近い低感染価で国産おたふくかぜワクチン3株を継代し、ウイルスに如何なる変化が現れるかを塩基配列で確かめた。その結果、シーケンス波形に変化は観察され

ず、国産おたふくかぜワクチン 3 株は遺伝的にもウイルス集団的にも安定していることが判った。しかし、ウイルス感染価や増殖温度をそのままにして CEF の培養条件を変更するだけで、2 株に継代による遺伝子変化が観察されるようになり、株の遺伝的安定性は簡単に崩されることがわかった。[加藤篤、木所稔、田代真人]

・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. 呼吸器系細菌と SARS ウイルス(SCoV)との混合感染によるマウスの重症化肺炎に関する研究

elastase 誘導性弱毒細菌 *Pastuerella pneumotropica* (pp)と SCoV の混合感染により、マウスの重症肺炎が引き起こされるか否かについて検討した。SCoV は Frankfurt-1 (Fr-1)と Fr-1 のマウス継代株 (Fr-mo) を 6 週令 BALB/c マウスに経鼻接種した。SCoV 単独感染及び pp+Fr-1 感染では、マウス体重は SCoV 感染後 2-3 日減少したが、その後回復し、死亡する個体は認められなかった。pp+F-mo 感染ではマウスの体重減少が著しく、感染後 4 日から重症肺炎で 30-100%のマウスが死亡した。pp+F-mo 群の肺でのウイルス増殖は、他の群と比し高かった。また、病理組織学的検索では pp+F-mo 感染群で、肺胞腔内に硝子様物質を含む顕著な肺炎像が認められ、死亡例では SARS 患者と同様の特徴的なび慢性肺胞傷害が見られた。本研究から、SARS の重症化には 1) SCoV 増殖が増強される elastase 等の産生がある微弱な肺炎、2) 変異により動物種に馴化した SCoV、が重要であることが示唆された。本研究でのマウス重症化肺炎はヒト SARS と極めて類似性の高い動物病態モデルと考えられる。[田口文広、永田典代・岩田奈織子(感染病理部)、渡辺理恵、網康至(動物管理室)]

2. ヒトコロナウイルス 229E のスパイク蛋白質をもつ VSV シュードタイプウイルスの作製

ヒト鼻風邪の病原体であるヒトコロナウイルス(HCoV) 229E の細胞侵入機構を解析するため、S 蛋白質を持つ VSV シュードタイプの作製を試みた。SARS コロナウイルス(SCoV)では、S 蛋白質の細胞質ドメイン C 末端から 19 個のアミノ酸欠損蛋白質が効率良く VSV シュードタイプに組み込まれることが報告されている(福士ら J Gen Virol(2005))ため、229E でも 19 個のアミノ酸が欠損した S (HCoV-S 19)を持つ VSV シュードタイプの作製を試みた。293T 細胞に HCoV-S 19 を発現し、VSV G*-GFP の感染により、HCoV-S 19 を持つ VSV シュードタイプ (VSV-HCoV-S-GFP) が得られた。VSV-HCoV-S-GFP はウェス

タンプロットにより、229E の S 蛋白質および VSV の M 蛋白質を持つことが確認された。また、得られた VSV-HCoV-S-GFP の HeLa 細胞での力価は $10^{4.5}$ infectious unit(IU)/ml であり、VSV の G 蛋白質に対する抗体では中和されず、HCoV 229E 抗体で特異的に中和された。以上のことから、HCoV 229E においても、SCoV と同様に細胞質ドメインの末端の 19 個のアミノ酸欠失により、効率良くシュードタイプウイルスを作製できることが明らかとなった。[白戸憲也、川瀬みゆき、田口文広]

3. ヒトコロナウイルス 229E の細胞内侵入機構に関する研究

ヒトコロナウイルス 229E 感染細胞は SARS コロナウイルス(SCoV)同様、トリプシン処理により細胞融合を引き起こすことを見出し、細胞内侵入も SCoV 同様の機構であることが示唆されたため、その可能性について検討を行った。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 が観察された。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、巨細胞により 229E 感染価を定量することが可能になった。トリプシンによる巨細胞形成は、S 蛋白質の解裂の無い SCoV、MHV-2 と酷似している。トリプシン処理後の感染性ウイルスによる巨細胞による定量系及び 229E S 蛋白質を持つ VSV シュードタイプウイルスを利用して、以下のことを明らかにした。1) HeLa への感染は抗アミノペプチダーゼ(APN)抗体によって抑制される、2) 229E 感染はエンドゾーム(ES)内の酸性化阻害剤の bafilomycin による抑制され、また、3) その感染は、システインプロテアーゼ阻害剤により抑制される。以上のことから、229E の細胞内侵入機構は SCoV と同様で、APN に結合後、ES に輸送され酸性環境下で活性を持つプロテアーゼにより S 蛋白質が解裂、活性化され、細胞内に侵入することが示唆された。[川瀬みゆき、白戸憲也、田口文広]

4. RS ウイルスの non-structural protein (NS) 2 を組み込んだ HEp-2 細胞のクローニング

ヒト RS ウイルスは二つの非構造蛋白質 NS1 と NS2 を持つ。これらの蛋白質は、感染細胞内でインターフェロン反応系を阻害して、細胞の抗ウイルス作用を抑えるため、ウイルス複製が促進されることが報告されている。IFN 反応系が低い細胞は、ウイルス細胞内増殖機構の研究には極めて有用である。IFN 活性の低い細胞を作成するために、RS ウイルス long 株、および A2 株の NS2 蛋白質発現プラスミドを HEp-2 細胞に形質導入し、G418 存在下で

培養し、NS2 発現細胞クローンを樹立した。得られた細胞は、NS2mRNA が発現していることが RT-PCR 法によって確認された。作製した NS2 発現細胞を用いて IFN 反応系や呼吸器ウイルスの感染性について解析中である。[白戸憲也、田代真人、田口文広]

5. 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、冠動脈病変の合併が大きな問題である。疫学的な特徴から、病原体が川崎病発症の引き金になっている可能性が指摘されているが、本体は明らかではない。我々はヒトコロナウイルス (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 及び NL63) に対する抗体を蛍光抗体法 (IFA) で調べた。その結果、急性期血清、健常児対照群と比べ回復期血清では 229E に対する抗体陽性率は有意に高かった。このことは、229E が直接川崎病への関与の可能性と、229E とは異なるが抗原性の類似したウイルスが関与する可能性を示唆している。そこで、229E 特異的抗体を検出できると考えられる中和試験法の確立を試みた。中和試験法として、感染性 229E を用いる系と、229E S 蛋白を発現する VSV シュードタイプウイルスとの系を比較した。その結果、シュードタイプウイルスを用いた場合にも感染性ウイルスとほぼ同様の結果が得られ、今後この系を用いて、川崎病患者血清中の 229E 特異的抗体を中和試験で検討する予定である。[白戸憲也、川瀬みゆき、田代真人、田口文広]

6. ヒトアデノウイルスに対する中和抗体測定法の標準化

ヒトアデノウイルス (HAdV) の特殊性から中和 (NT) 抗体測定法はダブルスタンダードが適当と考える。血清型別別用抗体測定法は 1950 年代から採用されている簡便法が便利で問題はない。一方、血清疫学とかワクチンの効力試験を目的とした測定法は一定していないため、昨年に引き続き再検討し、基本的に統一しておいた方がよいと思われる以下の結果を得た。1. マイクロ NT 試験を 96 穴平底プレート内で行う (50 μ l システム)。2. 感染価測定は Hep2 細胞 (細胞数 1.0×10^5 / ml) を使用し、7~8 日目判定が適当。3. 攻撃ウイルスは 100 TCID₅₀ / 50 μ l でなく 10 TCID₅₀ / 50 μ l とする。4. 36 $^{\circ}$ C、1 時間。5. CPE 出現の有無で判定するわけであるが、全視野を隈なく観察し熟練者以外判定困難では実際的で無いから判定基準を明確にする。以上の方法で型別免疫血清及びヒト血清を使用して検討し、ほぼ良好な結果が得られた。[荻野利夫、吉井孝男 (客員研究員)]

7. 細胞表面ヘパラン硫酸のマウス肝炎ウイルス感染における役割について

マウス肝炎ウイルス (MHV) は特異的受容体 (MHVR) を介して細胞に吸着、侵入するが、MHV-JHM 株 cl-2 およびその変異株 srr7 は MHVR 非発現細胞へも吸着することが明らかとなっている。一方、MHV-A59 変異株で MHVR 非依存性に感染する MHV-rec は、ヘパラン硫酸 (HS) を新たな受容体として利用することが報告されている。そこで、本研究では JHM の吸着に關与する細胞表面分子として、HS に焦点を当て検討した。real-time PCR 解析により、HS を取り除いた細胞への JHM 吸着量は約 1/2 に減少することが明らかになった。吸着したウイルスの感染価を調べたところ、可溶性 MHVR (soR) 存在下で検出可能な MHVR 陰性の BHK 細胞への感染は 1/10 以下に低下したが、MHVR 恒常発現細胞 BHK-R1 では上昇傾向にあった。ウイルスをヘパリン処理することにより、BHK 細胞では感染阻止が観察されたが、BHK-R1 細胞では認められなかった。これらの結果は、HS に MHV が結合すること、S 蛋白質の受容体結合領域とヘパリン、HS 結合領域は異なることを示唆している。また、BHK への感染性は soR によって賦与されたが、ヘパリンや可溶性 HS によって感染が促進されることはなかった。以上の結果から、HS は MHV 結合に關与しているが、受容体活性は示さないことが明らかとなった。[渡辺理恵、田口文広]

8. マウス肝炎ウイルスの JHM 変異株 srr7 のマウス大脳分離細胞での受容体非依存性感染拡大に関する研究

神経病原性の高い MHV-JHM (wt) は受容体 (MHVR) 非依存性感染能力を持つが、変異株の srr7 にはその活性はなく、その違いはスパイク (S) 蛋白質の一アミノ酸変異によることが明らかにされた。マウス神経系培養細胞を用いた srr7 感染は、感染後 24 時間では MHVR 陽性の microglia 系の細胞に留まるが、72 時間後には周囲細胞へ感染拡大が認められ、感染拡大は受容体に対する抗体では阻止できなかった。srr7 感染細胞から 2~3 日後に分離したウイルスは、spinoculation により受容体非発現 BHK 細胞へ感染した。以上のことから、srr7 感染 microglia 系細胞から、受容体非依存性感染能力のあるウイルス出現の可能性が示唆された。srr7 由来の受容体非依存性感染能を持つウイルスの S 蛋白質は、srr7 と比べアミノ酸変異が認められたが、wt への revertant は観察されなかった。今後、どのようなメカニズムで新たな受容体非依存性感染能を持つウイルスが出現するのか検討したい。[中垣慶子 (国立精神神経センター)、田口文広]

9. 異なる受容体を持つマウスのマウス肝炎ウイルス感受性に関する研究

マウス肝炎ウイルス(MHV)感受性 C57BL/6 は CEACAM1a を、抵抗性 SJL は CEACAM1b を MHV 受容体として発現している。両系統の MHV 感受性が受容体に依存するかを検討するため、1a を 1b で置き換えた C57BL/6 (b/b) 置換マウスを作成し、C57BL/6 (a/a) 及び(b/b)マウスに MHV-A59 を感染させ、生存率および組織中のウイルス力価を検討した。その結果、b/b マウスは a/a マウスと比べ MHV に対する生存率が顕著に高く、肝、脾、脳および血液中のウイルス力価は著しく低かった。即ち、b/b マウスは a/a マウスと比べ高い MHV 抵抗性を示した。以上の結果から、MHV 感受性はその受容体により決定されることが強く示唆された。[平井明香・網康至・山田靖子(動物管理室)、田口文広]

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

RSウイルス臨床分離株 25 株(サブクラス A:18 株, サブクラス B:7 株)の抗RSウイルスヒト化モノクローナル抗体に対する難中和株の有無を検討した。その結果、いずれの株も同抗体により強く中和された。[野田雅博、田代真人、水田克巳(山形県衛生研究所)]

11. パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子の機能

パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子である V や C 蛋白質について、最近、セнда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、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 能がウイルスの病原性発揮にとってどの程度重要なのか調べるために C 蛋白質にアミノ酸置換を導入して作成した抗 IFN の無い SeV をマウスに実験感染させた。その結果、ウイルスは感染早期に排除され、非病原性株になっ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 (BPvV) の遺伝子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、近年ウシ血清へのウイルスの混入の低減を目的とし 線照射が広く実施されて

いる。そこで本処理が BPvV 遺伝子の断片化に有効であるか検討した。その結果、一般的に実施されている 25kGy の 線照射により BPvV 遺伝子は検出限界以下となった。このことより 線照射はウシ血清中への BPvV 遺伝子の混入リスクの低減化に有効であることが認められた。[大槻紀之、駒瀬勝啓、門澤和恵、伊藤治(農林水産省動物医薬品検査所)]

2. 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。妊婦の膣擦過材料を用いて 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。CMV 陽性妊婦では周産期障害の発生頻度が高いことが明らかになった。[堤裕幸(札幌医科大学)、沼崎啓]

3. ウイルスによる院内・実験室内感染の予防対策に関する研究

院内感染対策に関しては、手洗いの励行や指定消毒薬使用の推奨などが繰り返し報告されてきた。医療従事者にとっては消毒薬自体の異臭、頻回の手洗いと消毒薬使用による皮膚への悪影響なども問題となっている。ウイルス、耐性菌などの院内感染の事例は現在でも後を絶たず、微生物学領域で感染性因子を取り扱う研究者、検査担当者も同様の問題を抱えている。感染症対策の実践に関しては各施設の状況に応じて必ずしも統一性が保たれているとは言えず、対策効果の評価も不統一である。現在使用可能な抗ウイルス効果を有する市販製品の有効性ならびに使用者側に立った易使用性を検討し、実践性の高い院内感染対策法の確立を標榜している。[沼崎啓、市村宏(金沢大学医学部)]

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

パラミクソウイルスはゲノムの転写複製に宿主細胞の酵素を利用しないため宿主の細胞分裂速度、細胞周期の影響を受けにくい特性を持ち、ウイルスをベクター化してもこの利点が保持される。パラミクソウイルス科のセ

ンダイウイルス(SeV)、麻疹ウイルス(MeV)、ジステンパーウイルス(CDV)について cDNA を作成し、ウイルスベクター開発をめざした。SeV と MeV では外来遺伝子を発現できるようになり、CDV は MeV で得た知見を基にウイルス回収系の作成を行った。その結果、SeV では各種の発現系が作出でき、ベクターを構成する P 遺伝子の機能の一部が明らかになった。MeV では高効率回収系の作出並びにそれを利用した弱毒化機構の解析、分節型ゲノムベクターの作成が可能になった。CDV では新しい遺伝子型の野外株を基にして新型ワクチンのデザインが可能になった。[加藤篤、森本金次郎(ウイルス第一部)、竹田誠(九州大学大学院・医学研究院)、山口良治(宮崎大学・農学部獣医学科)]

5. 改良型痘そうワクチン株 m8 によるカニクイザルにおけるサル痘発症予防の成立

m8 株は弱毒痘瘡ワクチン株 LC16m8 から B5R 遺伝子を完全に欠失させることにより遺伝的安定性を向上させた改良型痘そうワクチン株である。我々はマウスの感染防御実験において m8 株が米国の現行ワクチン Dryvax と遜色ない感染防御免疫誘導能をもつことを示し、B5R 遺伝子が poxvirus の感染防御に必ずしも必須ではないことを証明した。今回我々はよりヒトに近いカニクイザルを用いたサル痘ウイルス(MPXV)感染実験によって m8 株の有効性を評価した。その結果、Lister 株接種群と同様に m8 株接種群においても MPXV の発症は完全に阻止された。これらの結果は、カニクイザルの感染モデルにおいても B5R 遺伝子が感染防御に必ずしも必須ではないことを示しており、m8 株が痘そうワクチンとして有効であることを示唆している。

[木所稔、西條政幸・緒方もも子・福土秀悦・水谷哲也・倉根一郎・森川茂(ウイルス第一部)、網康至・須崎百合子(動物管理室)、永田典代・岩田奈織子・長谷川秀樹・佐多徹太郎(感染病理部)、志田壽利(北海道大学遺伝子病制御研究所)、田代真人、倉田毅(富山県衛生研究所)]

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。本年度も地方衛生研究所の協力の下、新たに 4 株のインフルエンザウイルス(H4N1、H4N6、H9N1、H11N2)

が野鳥から分離された。これらの分離株は、抗原性状と遺伝子性状が解析された後、感染研の動物インフルエンザウイルスバンクに保管された。[今井正樹、二宮愛、氏家誠、板村繁之、小淵正次、影山努、斉藤利憲、小田切孝人、田代真人]

2. 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 18 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/Hiroshima/52/2005(IVR-142)(H3N2)、B/Malaysia/2506/2004 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、豪州の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、TGA 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]

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。2006/2007 シーズンは流行の始まりが例年より 1 ヶ月以上遅く、ウイルス分離数から見た規模も例年より小さかった。A/H1、A/H3、B 型の分離比はそれぞれ 12%、47%、41%であった。A/H1 分離株の多くはワクチン株 A/New Caledonia/20/99 類似株であったが、抗原変異株も 3 割以上占めた。それら変異株は抗原的に A/Solomon Islands/3/2006 と類似で、HA には K140E の特徴的なアミノ酸置換が見られた。A/H3 分離株の 4 割はワクチン株 A/広島/52/2005 類似株であったが、6 割は抗原変異株であった。HA 遺伝子の解析では、流行株は A/広島/52/2005 とは異なるグループを形成した。B 型は昨シーズンに引き続き、分離株のほとんどは Victoria 系統であり、抗原的にも遺伝的にもワクチン株 B/Malaysia/2506/2004 類似株であった。これら、解析結果は定期的に NESID 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、高井弘美、野崎智子、影山努、望月菊、板村繁之、今井正樹、二宮愛、氏家誠、河野直子、小田切孝人、田代真人]

2. 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。全国の地方衛生研究所および関連施設の協力のもとに、2006/07 シーズンの分離株より、A/H1 型 51 株、A/H3 型 74 株、B 型 47 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/ Solomon Islands/3/2006/類似株に特徴的な 140E アミノ酸を有しており、R188M/A189T、R188S/A189T あるいは R188K アミノ酸置換を持つ変異株も分離された。A/H3 型では、分離株の大半がワクチン株 A/広島/52/2005 類似株に特徴的な 193F アミノ酸置換を有しており、142G あるいは 140I アミノ酸置換を持つ変異株も分離された。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、高井弘美、小田切孝人、田代真人]

3. 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して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を監視するために、17 地区の地方衛生研究所に依頼して、ブタにおけるウイルス分離調査を行った。ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種したところ、744 検体中 3 検体からインフルエンザウイルスが分離された。HI 試験を用いて分離ウイルスの亜型を同定した結果、いずれの株もブタの間で常在している H3 亜型ウイルスであることが判明した。したがって、現時点では鳥インフルエンザウイルスは確認されておらず、我が国のブタには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、氏家誠、小田切孝人、田代真人]

4. 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患であるため、風疹感受性調査のための標準血清 (HI 抗体陽性血清並びに陰性血清) を用意し感染症情報センターを通じて 16 都県に配布した。また、地方衛生研究所からの抗体調査結果を解析し、報告書にまとめた。[大槻紀之、海野幸子、感染症情報センター、駒瀬勝啓]

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、田中明子・布施晃(血液・安全性研究部)、落合雅樹・堀内善信(細菌第二部)、小田切孝人、田代真人]

国際協力関係業務

1. 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスの実験室内診断と国際協力

2003 年末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、ユーラシア全域、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 200 名近い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-H5 レファレンス診断ラボに指定されていることから、ラオス、ミャンマー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、培養細胞および発育鶏卵を使ったウイルス分離、リアルタイム RT-PCR 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の資料として活用された。[今井正樹、影山努、二宮愛、氏家誠、望月菊、板村繁之、河野直子、小淵正次、斎藤利憲、高井弘美、小田切孝人、田代真人]

2. 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザの診断における技

術支援

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、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鳥インフルエンザ、新型インフルエンザ対策が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。今年度感染研は JICA の支援のもとベトナム国立公衆衛生疫学研究所 (NIHE) へモバイル BSL-3 ラボを寄贈し、高病原性鳥インフルエンザウイルスの分離、培養ができるようにバイオセーフティー面およびウイルス学的面からの技術支援を行った。本プロジェクトは H19 年度に本格的な BSL3 施設が稼動するまで引き継がれ、継続的な技術支援が行われる。[小田切孝人、杉山和良(バイオセーフティー管理室)、中嶋健介(国際協力室)、渡邊治雄(副所長)]

3. 中国における高病原性 H5N1 鳥インフルエンザの流行状況防疫対策に関する FAO/OIE/WHO 合同調査

中国では 2003 年から高病原性鳥インフルエンザの流行があり、東南アジア諸国での流行株とは異なった H5N1 ウイルスが家禽や人での感染例を出している。しかし、それらの詳細情報は必ずしも適時に WHO に報告されず、当該国における高病原性鳥インフルエンザの流行状況は不明のところが多い。高病原性鳥インフルエンザは一国のみならず近隣諸国や全世界に重大な影響を及ぼすことから、中国における流行の実態を正確に把握し、家禽へのワクチン接種の実態や効果などの情報を諸外国と共有することが重要である。このため、FAO/OIE/WHO 合同チームが結成され、中国農務省、中国保健省関係機関に対して緊急調査と協議が行われた。感染研からは WHO インフルエンザ協力センターとして 1 名が調査に参加し、実態調査にあたった。その結果、中国では北部と南部ではそれぞれ異なった高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスが蔓延しており、WHO へ報告されていない別の H5N1 ウイルスによる家禽での流行があることが判明した。それらの情報は今後 WHO へ適時に報告することで合意された。[小田切孝人]

4. 台湾国家衛生研究院に対するインフルエンザワクチン品質管理に関する技術支援

平成 18 年 12 月 3 日から 7 日まで台湾国家衛生研究院を訪問して、インフルエンザワクチンの力価試験などの試験方法や品質管理に関する問題点について講演を実施し、具体的な問題点や課題などについて討論を行い、イ

ンフルエンザワクチンの品質管理に関する技術的な支援を実施した。[板村繁之、堀内善信(細菌第二部)]

5. WHO による鳥インフルエンザウイルスに対する中和抗体測定法の標準化への協力

新型インフルエンザワクチン開発の重要性が認識されるに随って、その効果判定のひとつの指標として中和抗体価が注目されているが、その手技はあまり標準化されておらず測定値の一致度についても十分に検証されていない。そこで WHO ではワクチン効果判定や血清学的診断を標準化するために国際共同研究を計画している。その事前準備として平成 18 年 10 月 3 日に「インフルエンザウイルスに対する中和抗体測定法の標準化に関するワークショップ」が開催された。中和抗体測定法の標準化への国際協力として本ワークショップに参加し、中和抗体測定法の問題点と今後の共同研究の方法について議論した。[板村繁之]

6. 海外からの招聘研究員への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東南アジア諸国から感染診断担当者を感染研に招聘し、研修を行ってきた。今年度はベトナム NIHE、カンボジアパスツール研究所からそれぞれ 1 名、ミャンマー国立衛生研究所から 2 名を招聘し、実験室診断技術について約一ヶ月の研修を行った。また、ウイルス 1 部、免疫部、獣医科学部、感染病理部、エイズセンターからの協力を得て、インフルエンザウイルス以外についても研修を行った。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ができるようになることを目標とした。また、感染研と招聘国との今後の協力関係の構築も目標とした。[小田切孝人、今井正樹、影山努、二宮愛、小淵正次、氏家誠、板村繁之、河野直子、望月菊、高井弘美、田口文広、白戸憲也、田代真人、篠原克明・杉山和良(バイオセーフティー管理室)、奥谷晶子・井上智(獣医科学部)、駒野淳・村上努(エイズ研究センター)、徳永研三(感染病理部)、高崎智彦・岸本寿男(ウイルス第一部)、大島正道(免疫部)]

7. 検疫所職員への高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修

国内における新型インフルエンザ対策の一環として、

ウイルス第三部

主要検疫所 13ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、PCR 検査を中心とした高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修を行った。また、研修後はそれぞれの検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で発揮されるように連携の強化が図られた。[小田切孝人、今井正樹、影山努、二宮愛、小淵正次、氏家誠、板村繁之、河野直子、望月菊、高井弘美、田代真人]

8. 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

ベトナム国立ワクチン生物製剤品質管理研究所 (NICVB) から 2 名、国立衛生疫学研究所 (NIHE) のワクチン製造所 Vabiotech より 1 名の研修員を受け入れて平成 18 年 9 月 19 日から 10 月 20 日までインフルエンザワクチンの品質管理に係わる力価試験について研修を実施した。[板村繁之、河野直子、小田切孝人]

9. 地方衛生研究所職員を対象とした特別課程ウイルスコース (国立保健医療科学院主催) において、分離培養法、RS ウイルス感染症、インフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻疹、風疹の各講義、インフルエンザウイルスの実習を担当した。[小田切孝人、小淵正次、沼崎啓、駒瀬勝啓、加藤篤、木所稔、野田雅博]

10. ベトナム、National Institute of Control on Vaccines and Biologicals の研修生 2 名に風疹ワクチン品質管理に関する研修を実施した。[大槻紀之、駒瀬勝啓]

11. JICA、中国国別研修「中国予防接種行政」の一環として、「麻疹、風疹ワクチン」の講義を行った。[駒瀬勝啓]

12. 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ならびに国内の主要研究施設に分与した。[關文緒、菅井敏行、田代真人、沼崎啓]

13. 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た。[染谷健二、關文緒、宮沢貴磨呂(三菱化学 BCL)、菅井敏行、田代真人、沼崎啓]

14. ベトナムからワクチン品質管理技術研修の目的で来日した 2 名の研究者に対して臨床ウイルス材料の取り扱い、実験室診断の方法等について研修を行った。[野田雅博]

発表業績一覧

・誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Imai, M., Ninomiya, A., Minekawa, H., Notomi, T., Ishizaki, T., Tashiro, M., Odagiri, T. Development of H5-RT-LAMP (loop-mediated isothermal amplification) system for rapid diagnosis of H5 avian influenza virus infection. *Vaccine* 24: 6679-82 (2006)
- 2) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Ozaki, Y. A., Sato, Y., Harashima, A., Morikawa, S., Saijo, M., Itamura, S., Saito, T., Odagiri, T., Tashiro, M., Ami, Y., Sata, T., Pathological and virological analyses of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infections in experimental animals. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581: 515-518 (2006)
- 3) Ninomiya, A., Imai, M., Tashiro, M., Odagiri, T., Inactivated influenza H5N1 whole-virus vaccine with aluminum adjuvant induces homologous and heterologous protective immunities against lethal challenge with highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses in a mouse model. *Vaccine* 25, 3557-3560 (2007)
- 4) Imai, M., Ninomiya, A., Minekawa, H., Notomi, T., Ishizaki, T., Tu, P. V., Tien N. T. K., Tashiro, M., Odagiri, T. Rapid diagnosis of H5N1 avian influenza virus infection by newly developed influenza H5 hemagglutinin gene-specific Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) method. *J Virol. Methods* 141: 173-80 (2007)
- 5) Horimoto, T., Takada, A., Fujii, K., Goto, H., Hatta, M., Watanabe, S., Iwatsuki-Horimoto, K., Ito, M., Tagawa-Sakai, Y., Yamada, S., Ito, H., Ito, T., Imai, M., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Lim, W., Guan, Y., Peiris, M., Kawaoka, Y. The development and characterization of H5 influenza virus vaccines derived from a 2003 human isolate. *Vaccine* 24: 3669-3676 (2006)

- 6) Asahi-Ozaki, Y, Itamura, S, Ichinohe, T, Strong, P, Tamura, S, Takahashi, H, Sawa, H, Moriyama, M, Tashiro, M, Sata, T, Kurata, T, Hasegawa, H. Intranasal administration of adjuvant-combined recombinant influenza virus HA vaccine protects mice from the lethal H5N1 virus infection. *Microbes Infect* 8: 2706-2714 (2006)
- 7) Dinh, P. N., Long, H.T., Tien, N.T.K., Hien, N.T., Mai, L.T. Q., Phong, L.H., Tan, H.V., Nguyen, N.B., Tu, P.V., Phuong, Nguyen T.M., and the World Health Organization/Global Outbreak Alert and Response Network Avian Influenza Investigation Team in Vietnam (Anh, B.H., Barboza, P., Bhat, N., Curns, A., Doan, N.C., Katz, J., Fukuda, K., Funk, A., Maines, T., Simmerman, M., Tumpey, T., Uyeki, T., Bosman, A., Holle, Mirna D.R.B., Boqvist, S., Brown, R., Hasabe, F., Brudon, P., Calain, P., Dietz, R., Doran, R., Grein, T., Horby, P., Oshitani, H., Delpech, V., Gautier, P., Itamura, S., Saito, T., Mak, D., Miranda, N., Saito, R., Francart, J.). Risk Factors for Human Infection with Avian Influenza A H5N1, Vietnam, 2004. *Emerg. Infect. Dis.* 12:1841-1847 (2006)
- 8) Tanaka K, Yamada H, Minami M, Kataoka S, Numazaki K, Minakami H, Tsutsumi H. Screening for vaginal shedding of cytomegalovirus in healthy pregnant women using real-time PCR: Correlation of CMV in the vagina and adverse outcome of pregnancy. *J Med Virol* 78:757-759 (2006)
- 9) Koizumi Y, Ndembu N, Miyashita M, Lwembe R, Kageyama S, Mbanya D, Kapture L, Numazaki K, Fujiyama Y, Ichimura H. Emergence of ART resistance-associated primary mutations among drug-naïve HIV-1 individuals in rural western Cameroon. *J Acquir Immune Defic Syndr* 43: 15-22 (2006)
- 10) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. *Vaccine* 25: 3101-3104 (2007)
- 11) Homma K, Numazaki K. The steam humidifier hand burn in infants. *Int Med J* 6: 1 (2007)
- 12) Fujita S, Eguchi A, Okabe J, Harada A, Sasaki K, Ogiwara N, Inoue Y, Ito T, Matsuda H, Kataoka K, Kato A, Hasegawa M, and Nakanishi M. Sendai virus-mediated gene delivery into hepatocytes via isolated hepatic perfusion. *Biol Pharm Bull.* 29(8):1728-1734 (2006)
- 13) Goto, T., M. Morishita, K. Nishimura, M. Nakanishi, A. Kato, J. Ehara, and K. Takayama. Novel mucosal insulin delivery systems based on fusogenic liposomes *Pharmaceutical Research* 23:384-391 (2006)
- 14) Saika S, Kidokoro M, Kubonoya H, Ito K, Ohkawa T, Aoki A, Nagata N, Suzuki K. Development and biological properties of a new live attenuated mumps vaccine. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 29:89-99 (2006)
- 15) Nakatsu Y, Takeda M, Kidokoro M, Kohara M, Yanagi Y. Rescue system for measles virus from cloned cDNA driven by vaccinia virus Lister vaccine strain. *J Virol Methods* 137:152-155 (2006)
- 16) Sone S, Izawa A, Narumi H, Kajita A, Tanabe J, and Taguchi F. The combination of type I interferon and ribavirin has an inhibitory effect on mouse hepatitis virus infection. *Hepato Res.* 37: 121-126 (2007)
- 17) Shirato K, Nishimura H, Saijo M, Okamoto M, Noda M, Tashiro M, and Taguchi F. Diagnosis of human respiratory syncytial virus infection using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *J. Virol. Methods* 139: 78-84 (2007)
- 18) Matsuyama S, Ujike M, Ishii I, Fukushi S, Morikawa S, Tashiro M, and Taguchi F. Enhancement of SARS-CoV infection by proteases. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581: 253-258 (2006)
- 19) Watanabe R, Suzuki K, Taguchi F. Receptor independent infection of mouse hepatitis virus : analysis by spinoculation *Adv. Exp. Med. Biol.* 581: 331-334 (2006)
- 20) Nakagaki K, Nakagaki K, Taguchi F. Receptor-independent spread of a neurotropic murine coronavirus MHV-JHMV in mixed neural culture. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581: 327-330 (2006)
- 21) Ishii K, Yokota Y, Takemori T, Hasegawa H, Mizutani T, Morikawa S, Taguchi F, Miyamura T. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581: 593-596 (2006)
- 22) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S, Yamada YK. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-coronavirus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 581: 519-522 (2006)
- 23) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Matsuyama S, Taguchi F, Kurane I, Morikawa S. Pseudotype vesicular stomatitis virus for functional analysis of SARS coronavirus spike protein *Adv. Exp. Med. Biol.*, 581: 293-296 (2006)
- 24) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Kanaji Y, Kurane I,

ウイルス第三部

- Taguchi F, Tashiro M, Morikawa S. Evaluation of a novel vesicular stomatitis virus pseudotype-based assay for detection of neutralizing antibody responses to SARS-CoV. *J Med Virol.* 78: 1509-1512 (2006)
- 25) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Mizutani T, Morikawa S, Suzuki T, Taguchi F, Tashiro M, Takemori T, Miyamura T, Tsunetsugu-Yokota Y. Induction of protective immunity against severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection using highly attenuated recombinant vaccinia virus DIs. *Virology* 351: 368-380 (2006)
- 26) Watanabe R, Matsuyama S, Taguchi F. Receptor-independent infection of murine coronavirus: analysis by spinoculation. *J. Virol.* 80: 4901-4908 (2006)
- 27) Mizutani, T, Endoh D, Okamoto M, Shirato K, Shimizu, Arita M, Fukushi M, Saijo M, Sakai K, Limn CK, Ito M, Nerome R, Takasaki T, Ishii K, Suzuki T, Kurane I, Morikawa S, Nishimura H. Rapid genome sequencing of RNA viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 13:322-324 (2007)
- 28) Shirato, K., Ujike, M., Watanabe, R., Mizutani, T. Mizutani, T. (ed.), SARS, Transworld Research Network, Kerala, India. SARS as an emerging diseases. 17-27 (2006)
2. 和文発表
- 1) 小田切孝人：インフルエンザウイルス流行の予測は毎年どのようにして行うのか *日医雑誌* 134: 1907-1910. 2006
- 2) 小田切孝人：高病原性 H5N1 鳥インフルエンザと新型インフルエンザに備えた事前準備と国際協力 *ウイルス* 56: 77-84. 2006
- 3) 小田切孝人、今井正樹、二宮愛、峰川晴美、納富継宣、田代真人：ランブ法による H5N1 高病原性鳥インフルエンザの診断 *インフルエンザ* 7, 201-209. 2006
- 4) 小田切孝人：リバーズジェネティクスによる弱毒化 H5N1 鳥インフルエンザワクチンの開発と応用 *日本臨床* 64: 1855-1864. 2006
- 5) 小田切孝人：H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの最近の動向と国家備蓄ワクチン *カレントテラピー* 24: 27-33. 2006
- 6) 田中政弘、板村繁之、小田切孝人、中嶋健介：インドシナ諸国における鳥インフルエンザ流行とその対策の現状、*インフルエンザ* 8 : 70-77. 2007
- 7) 板村繁之：インフルエンザのウイルス学、*内科* 98: 779-786. 2006
- 8) 板村繁之：インフルエンザワクチンは鳥インフルエンザや新型インフルエンザにも効くのか？ *インフルエンザ診療ガイドブック* 中外医学社：101-103. 2006
- 9) 駒瀬勝啓：インフルエンザワクチン、アレルギー・免疫 13(11): 1580-1586. 2006
- 10) 沼崎啓：サイトメガロウイルス感染症. *小児科診療増刊号 小児の治療指針* 69: 209-212. 2006
- 11) 沼崎啓：診断・治療のポイント *マイコプラズマ感染症. Infectious Diseases Report No.37.* 2006
- 12) 福村忍、黒岩由紀、木下和子、沼崎啓、中田修二、堤裕幸、遠藤高夫、秦史壮：小腸血管腫より出血を来した Blue Rubber Bleb Nevus syndrome の 1 例. *臨床小児医学* 54:45-47. 2006
- 13) 沼崎啓：先天性感染と HCMV. *日本臨床増刊号 ヘルペスウイルス学-基礎・臨床研究の進歩-* 64: 496-499. 2006
- 14) 沼崎啓：突発性発疹. *小児内科小児外科編集委員会共編. 小児内科増刊号 小児疾患の診断治療基準.* 東京, 東京医学社 38: 318-319. 2006
- 15) 加藤篤：おたふくかぜワクチン、臨床とウイルス 34(4):261-270. 2006
- 16) 加藤篤：センダイウイルスアクセサリー蛋白質による自然免疫からの回避 *獣医畜産新報* 59(7):562-564. 2006
- 17) 永井美之、加藤篤、井上誠：センダイウイルス工学の展開、蛋白質核酸酵素 51(1):27-37. 2006
- 18) 加藤篤、木所稔：乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン、日本薬局方解説書編集委員会編、第十五改正日本薬局方解説書、廣川書店、G44-46. 2006
- 19) 加藤篤：パラミクソウイルス、東 匡伸、小熊恵二編 改訂第 4 版 *シンプル微生物学*、南江堂、:269-276. 2006
- 20) 田口文広：川崎病と病原ウイルス 感染、炎症、免疫 36: 79-81. 2006
- 21) 田口文広：コロナウイルスの細胞侵入機構：病原性発現との関連 *ウイルス* 56(2): 165-172. 2006
- 22) 田口文広：SARS コロナウイルスの特徴とワクチン開発 *化学療法の領域* 22(12): 33-38. 2006
- 23) 田口文広：重症急性呼吸器症候群 (SARS) *分子呼吸器病* 11(1): 42-47. 2007
- 24) 田口文広：SARS コロナウイルス感染症 *臨床とウイルス* 43(5): 423-428. 2006
- 25) 木村博一、野田雅博、塚越博之、加藤政彦：ウイル

スの顕微鏡検査法と培養検査法 臨床と微生物
33: 569-574. 2006

26) 小淵正次: 今年のインフルエンザ対策は? 心とからだの健康 10: 14-19. 2006

学会発表

1. 国際学会

- 1) Takato Odagiri, Masaki Imai, Tsutomu Kageyama, Ai Ninomiya, Makoto Ujike, Harumi Minekawa, Tsugunori Notomi, Masato Tashiro Generation and update of laboratory diagnosis systems for H5N1 highly pathogenic avian influenza. US-Japan CMSP Singapore Conference, November 17-18, 2006.
- 2) Hasegawa H, Ichinohe T, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Ami Y, Suzaki Y, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T. Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist, PolyI:PolyC12U protects cynomolgus monkey against HPIV challenge. Keystone Symposia. Singapore, December 10-15, 2006.
- 3) Ichinohe T, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist, PolyI:PolyC12U protects mice against homologous and heterologous challenge. Keystone Symposia. Singapore, December 10-15, 2006.
- 4) Tashiro M, Odagiri T, Itamura S. Development of influenza H5N1 vaccines in Japan. 3rd China-Japan Scientific Symposium on Avian and Human Pandemic Influenza, Harbin, January 9-10, 2007.
- 5) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and WPR. The Fourth WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network Meeting. Expanded Programme on Immunization. Geneva, August 28-30, 2006.
- 6) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan. In: AIDS Seminar Series, Salle Bernard M. Bloomfield Lady Davis Institute for Medical Research: Montreal, Canada. November 7, 2006
- 7) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. *Symposium 1*, Progress in Infectious Pathogens Vaccines and Immunization, Fifth World Congress on Vaccines, Immunization & Immunotherapy. Montreal, Quebec, November 6-9, 2006.
- 8) Kubota T, Kubota M, Bray M, Jones S M, Tashiro M, and

Ozato K. Effect of Ebola virus VP24 and VP35 proteins on dendritic cell antiviral responses. XIII International Conference on Negative Strand Viruses, Spain, June 17-22, 2006

- 9) Taguchi F, Nagata N., Iwata N., Ami Y. Severe respiratory disease developed in mice co-infected with SARS-CoV and non-pathogenic respiratory bacterium: Animal model for SARS. Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Keystone symposia. Singapore December 10-15, 2006
- 10) Watanabe R., Maejima M, Fukushi S, Matsuyama S, Morikawa S, Taguchi F. Cleavage of spike protein defines the entry pathway of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV). Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Keystone symposia. Singapore December 10-15, 2006

2. 国内学会

- 1) 氏家誠、西川祐輝、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: SARS-CoV スパイク(S)蛋白質の Heptad Repeat 由来ペプチド(HRP)は細胞表面からのウイルス侵入を効果的に抑制する 第54回日本ウイルス学会・総会、名古屋、2006年11月
- 2) 氏家誠、福士秀悦、森川茂、田口文広: SARS-CoV スパイク(S)蛋白質の Cys-rich 領域は細胞間融合及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つ 第54回日本ウイルス学会・総会、名古屋、2006年11月
- 3) 今井正樹、二宮愛、川崎一則、小田切孝人: B型インフルエンザウイルスの感染性粒子形成過程におけるBM2蛋白質の役割 第54回日本ウイルス学会・総会、名古屋、2006年11月
- 4) 今井正樹: 高病原性鳥インフルエンザの実験室内診断法 平成18年度希少感染症診断技術研修会、国立感染症研究所、2007年2月
- 5) 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18年度鹿児島県職員臨床検査技師技術研修会、鹿児島、2006年6月
- 6) 一戸猛志、田村慎一、板村繁之、小田切孝人、田代真人、千葉丈、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹: アジュバント併用経鼻H5N1高病原性鳥インフルエンザワクチンの交叉防御効果の検討 日本ワクチン学会、大阪、2006年10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、氏家誠、田代真人: 2005/06シーズンの

ウイルス第三部

- インフルエンザ流行株と平成 18 年度のワクチン株
第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
- 8) 長谷川秀樹、一戸猛志、網康至、永田典子、川口晶、岩田奈緒子、須崎百合子、田村慎一、二宮愛、今井正樹、小田切孝人、田代真人、倉田毅、佐多徹太郎：カニクイザルを用いた高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) 経鼻ワクチンによる感染防御、第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
- 9) 一戸猛志、伊藤智史、田村慎一、二宮愛、今井正樹、小田切孝人、田代真人、千葉丈、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：自然免疫による高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) の感染防御効果、第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
- 10) 影山努、今井正樹、二宮愛、氏家誠、板村繁之、小淵正次、小田切孝人、田代真人：高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス拡散検出検査系の構築 第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
- 11) 一戸猛志、田村慎一、二宮愛、今井正樹、板村繁之、小田切孝人、田代真人、千葉丈、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：アジュバント併用経鼻 H5N1 高病原性鳥インフルエンザワクチンの交叉防御効果の検討 第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
- 12) 二宮愛、今井正樹、多田善一、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 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
- 13) 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 18 年度稀少感染症診断技術研修会、東京、2007 年 2 月
- 14) 影山努：H5N1 鳥インフルエンザウイルスの核酸検出法について 平成 18 年度稀少感染症診断技術研修会、東京、2007 年 2 月
- 15) 海野幸子、堀内善信、庵原俊昭、浅野喜造、岡田賢司、大槻紀之、田代真人、竹森利忠：風疹抗体国内標準品及び風疹パネル血清の整備、第 47 回日本臨床ウイルス学会、東京、2006 年 5 月
- 16) 多屋馨子、佐藤弘、海野幸子、田代真人、岡部信彦、感染症流行予測調査事業担当チーム：我が国における麻疹及び風疹の対する抗体保有率の推移 (2004 年度感染症流行予測調査事業より)、第 47 回日本臨床ウイルス学会、東京、2006 年 5 月
- 17) 大槻紀之、海野幸子、田代真人：細胞培養用ウシ血清からのウシポリオーマウイルス遺伝子の検出及び線照射による影響、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月
- 18) 佐藤弘、多屋馨子、海野幸子、田代真人、岡部信彦、感染症流行予測調査事業担当チーム：わが国における麻疹及び風疹の対する抗体保有状況 (2005 年度感染症流行予測調査事業より)、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月
- 19) 沼崎啓、岡野素彦：シンポジウム「ウイルスの分子疫学」衛生微生物技術協議会 第 27 回研究会、札幌 2006. 6 月
- 20) 沼崎啓：マイコプラズマ・クラミジア小児呼吸器感染症の新しい概念 平成 18 年江戸川区小児科医学会学術講演会特別講演、東京、2006 年 7 月
- 21) 岡田宏美、竹内薫、伊藤正恵、沼崎啓、永田恭介：麻疹ウイルスの Vero 細胞継代に伴う遺伝的変異および性質の変遷 第 54 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、2006 年 11 月
- 22) 木所稔、西條政幸、網康至、須崎百合子、永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、志田壽利、田代真人、佐多徹太郎、倉根一郎、倉田毅、森川茂：改良型痘そうワクチン株 m8 のカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果、第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月
- 23) 田口文広、永田典代、岩田奈緒子、網康至：呼吸器系細菌と SARS ウイルスとの混合感染によるマウスの重症化肺炎に関する研究 第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月
- 24) 渡辺理恵、前島雅美、福士州悦、松山州徳、森川茂、田口文広：SARS コロナウイルス解裂性スパイク蛋白を持つ pseudotype ウイルスの細胞内侵入機構に関する研究 第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月
- 25) 中垣慶子、田口文広：マウス肝炎ウイルスの JHM 変異株 srr7 のマウス大脳分離細胞での受容体非依存性感染拡大のメカニズムに関する研究 第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月
- 26) 田口文広、川瀬みゆき：ヒトコロナウイルス 229E の細胞内侵入機構に関する研究 第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋 2006 年 11 月
- 27) 渡辺理恵、田口文広：細胞表面ヘパリン硫酸のマウス肝炎ウイルス感染における役割について 第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月
- 28) 座本綾、福士秀悦、田口文広、森川茂、山田靖子：フェレット ACE2 と SARS-CoV S 蛋白質の親和性の解析 第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月