

7.4.1 Refine existing infection control guidelines and procedures for use in all levels of health care facilities, including

health centres,

community health clinics and

general practice surgeries, during the pandemic.

7.4.2 Develop infection control guidelines for use in emergency health care facilities.

7.4.3 Develop or revise guidelines for handling infectious materials in laboratories.

7.4.4 Develop guidelines related to infection control procedures for volunteers and other people who may be working outside their area of competence and training.

7.4.5 Consider education and training needs for volunteers and other people who may be working outside their area of competence and training.

## 8. Essential Services

Consideration of the effect of a pandemic on essential services is itself an essential part of pandemic planning.

8.0 Identify the advantages and disadvantages of declaring a state of emergency during a pandemic.

### 8.1 Essential Service Personnel

8.1.1 Make clear who can finally decide on a list of essential services (otherwise you will end up with 50% of the population being essential)

Develop a list of essential community services and corresponding personnel whose diminution or absence would pose a serious threat to public safety or would significantly interfere with response to the pandemic. Personnel from these groups may have been identified for priority vaccination with routine or pandemic strain influenza vaccine or for anti-viral drug prophylaxis, depending on vaccine and drug availability.

8.1.2 From the list of essential service personnel, estimate the minimum number necessary for a sustained pandemic response.

8.1.3 Identify personnel who may be available to

assist in an essential non-health care role with maintenance of essential services during a pandemic. Replacement personnel could be sourced from the military, retired people, people employed in other areas or voluntary organisations.

8.1.4 Develop protocols for accepting and training volunteers and workers from other fields for defined essential service roles.

8.1.5 Ensure that liability, insurance and temporary licensing issues for volunteers and workers from other fields are addressed.

8.1.6 Begin discussions with professional organisations and unions regarding tasks outside areas of training and competence during a pandemic

## 8.2 Maintaining Essential Services

8.2.1 Each designated essential service will need to refine or develop existing emergency contingency plans so that they could be applied to a pandemic.

8.2.2 Develop contingency plans to provide food, medical and other essential life-support needs for persons confined to their homes by choice or by direction from health authorities.

8.2.3 Develop aftercare and recovery plans and guidelines.

## 9. Public health measures

**Intro: WHO will provide MS with as much guidelines as possible. However, national adaptation may be needed so you need to have a clear structure in place how quick adaptation can take place.**

9.1 As appropriate, each jurisdiction will need to be clear about the legality of all public health measures that are proposed.

9.2 Ensure that infection control guidelines for health care facilities, including emergency health care facilities, primary care centres and laboratories, are updated and distributed widely.

9.3 Develop or enhance infection control guidelines for other institutions, such as schools, other educational institutions, sporting clubs etc.

9.4 Ensure that adequate infection control training is available to volunteers and other people who

may be working outside their area of competence and training.

9.5 Be aware of guidelines from Departments/Ministries of Agriculture in relation to measures that will be taken to control animal or bird influenza before the development of human cases.

9.6 Develop or enhance guidelines for the prevention of influenza in humans who have contact with animals or birds infected with influenza, for example, bird or animal cullers, veterinarians and farmers.

9.7 Develop or enhance guidelines for the prevention of influenza in humans when there is evidence of inefficient human to human spread of an avian or animal strain of influenza.

9.8 Develop or enhance guidelines for the prevention of influenza in humans when there is evidence of efficient human-to-human transmission of a novel pandemic strain of influenza. These guidelines may include

9.8.1 Personal advice about reducing the risk of transmission

9.8.2 Travel restrictions (leaving and entering areas where infection is established) Discuss with Ministry of foreign affairs

9.8.3 Closure of educational institutions Discuss with minister of education

9.8.4 Closure of child-minding facilities

9.8.5 Prohibition of mass gatherings Discuss with minister of internal affairs, economic affairs etc

9.8.6 Restrictions on the number and size of meetings for non-essential services and/or businesses

9.8.7 Isolation or quarantine of infected persons or persons suspected of being infected or persons from areas where pandemic strain influenza infection is established.

9.9 Ensure that guidelines relating to personal advice about reducing the risk of transmission are easily available to members of the public, for instance on an official influenza pandemic website.

## **10. Communication**

Communication strategies are an important component in managing any infectious disease outbreak and will be

essential in a pandemic.

The accurate communication of risk at all levels is critical in order to minimise unwanted and unforeseen social disruption and economic consequences.

### **10.1 Communication with international organisations**

10.1.1 Nominate a national peak body responsible for coordinating the collection and dissemination of information related to the pandemic in all its phases and levels.

10.1.2 Establish a mechanism for information sharing between the national peak body and regional WHO offices, WHO Headquarters and other UN agencies.

10.1.3 Consider establishing an official national influenza pandemic website. Link this website with similar websites developed by other member states, after evaluation of the quality and relevance of the information provided on these other sites.

10.1.4 Regularly review and evaluate other websites of other member states and update links during the pandemic.

### **10.2 Communication between national organisations**

10.2.1 Nominate a national peak body responsible for coordinating the collection and dissemination of information related to the pandemic in all its phases and levels.

10.2.2 Designate a representative or representatives from the national peak body to liaise with senior bureaucrats and politicians in health and other areas at the national level.

10.2.3 Define the national groups that will form part of the national communication network, for example, representatives of Departments/Ministries of Health, Agriculture and Emergency Services.

10.2.5 Define deficiencies in the national communications network and develop a strategy for rectifying these deficiencies.

10.2.6 As far as possible, ensure a mechanism exists for the timely and consistent distribution of information between national bodies. Such information would

include the case definition for suspected and confirmed cases, policies on vaccine and anti-viral drug use, clinical management guidelines, the number of cases identified and their location, deaths due to pandemic strain influenza and effect of the pandemic on essential services.

10.2.7 Consider recruiting a senior clinician to assist with clinical management guidelines at the national level.

### **10.3 Communication from the national peak body to regional groups**

10.3.1 As far as possible, ensure a mechanism exists for the timely and consistent distribution of information from the national peak body to regional bodies. Such information would be as for 10.2.6 above.

10.3.2 Define deficiencies in the communications network between the national peak body and regional bodies and develop a strategy for rectifying these deficiencies.

10.3.3 Consider recruiting a senior clinician to assist with clinical management guidelines at the regional level in consultation with a similar clinician working at the national level.

10.3.4 Develop fact sheets for distribution to various target groups including professional and community groups. Ensure national consistency of fact sheets.

10.3.5 Consider providing fact sheets in more than one language.

### **10.4 Communication from regional groups to local groups and individual health care facilities**

10.4.1 Establish a mechanism for the timely and consistent distribution of information from the regional level to the local level and to individual health care facilities, including emergency facilities that may be established in the community.

10.4.2 Define deficiencies in the communications network between regional bodies and local organisations and individual health care facilities and develop a strategy for rectifying these deficiencies.

### **10.5 Communication with the wider community**

10.5.1 Consider establishing an official national or regional influenza pandemic website. Link this website with similar websites developed by other member states, after evaluation of the quality and relevance of the information provided on these other sites.

10.5.2 Nominate pandemic spokespersons at the national and regional levels. These persons would be responsible for all media presentations to the wider community.

10.5.3 Ensure that spokespersons will provide an accurate communication of risk.

10.5.4 In case of overwhelming demand, nominate alternate spokespersons.

10.5.5 Ensure adequate media support at the national and regional levels for these spokespersons.

10.5.6 Ensure that media briefings are held regularly. Daily briefings will be necessary when the pandemic is established locally.

## **11. Legal and ethical issues**

### **11.1 Legal issues**

Legal issues that have been highlighted in other parts of the plan are brought together as a separate checklist here. Other issues are added.

11.1.1 Identify the advantages and disadvantages of declaring a state of emergency during a pandemic.

11.1.2 Consider whether to make laboratory confirmed influenza a notifiable disease in both inter pandemic and pandemic periods.

11.1.3 Consider compulsory vaccination of HCWs and workers in essential services during a pandemic.

11.1.4 Address liability, insurance and temporary licensing issues for retired health care workers and volunteers who may be working in areas outside their training and competence.

11.1.5 Begin discussions with professional organisations and unions regarding tasks outside routine job descriptions during a pandemic.

11.1.6 As appropriate, each jurisdiction will need to be clear about the legality of all public health measures that are proposed, including

Travel restrictions (leaving and entering areas where infection is established)

Closure of educational institutions

Closure of child-minding facilities

Prohibition of mass gatherings

Restrictions on the number and size of meetings for non-essential services

Isolation or quarantine of infected persons or persons suspected of being infected or persons from areas where pandemic strain influenza infection is established.

11.1.7 Co-ordinate clinical care and health services plans with bordering jurisdictions, both within and outside national borders, to avoid migration to centres of perceived enhanced services.

11.1.8 Consider liability for unforeseen adverse events attributed to vaccine and/or anti-viral drug use, especially where the licensing process for a pandemic strain vaccine has been expedited. Liability issues may affect vaccine manufacturers, the licensing authority and people who administer the vaccine.

11.1.9 Ensure a legislative framework is in place for compliance with the International Health Regulations.

## 11.2 Ethical issues

11.2.1 Consider ethical questions related to limiting the availability of a scarce resource, such as rationed diagnostic laboratory testing, pandemic strain influenza vaccine or anti-viral drugs.

11.2.2 Consider ethical questions related to compulsory vaccination for HCWs and workers from essential services.

## 12. Response plan by pandemic phase

12.1 Determine the level of response (essential, desirable or comprehensive) that the member state will adopt.

12.2 Develop a response plan by pandemic phase and level. The response plan should indicate the specific response at each pandemic phase and level and reflect the detail of the preparedness plan. For instance, if a country has elected to consider only the essential aspects of pandemic planning, the response plan would address

only these aspects of preparedness.

12.3 The response plan should indicate the organisation responsible for the designated response at each phase.

## 13. Testing and revision of plan

13.1 Consider a desk-top review of the preparedness and response plan.

13.2 Consider a simulation exercise focussing on specific aspects of the response plan.

13.3 Revise the plan based on experience with new outbreaks, for example, after SARS and HPAI.

13.4 In the absence of outbreaks, nominate a period after which the plan would be revised.

## 14. Research and Evaluation

Research and evaluation would generally be conducted when the pandemic had ended and may include

Effectiveness of public health measures taken to control the pandemic

Pandemic strain vaccine effectiveness

The effectiveness of anti-viral drugs in the pandemic setting

The socio-economic impact of the pandemic

Viral studies

### 14.1 Planned

14.1.1 If a policy is developed to use anti-viral drugs during a pandemic, a defined strategy for monitoring anti-viral drug resistance should be developed.

14.1.2 Consideration should be given to monitoring anti-viral drug resistance if anti-viral drugs are used in the control of bird or animal influenza

14.1.3 Develop a strategy for collecting data that will enable an estimation of pandemic vaccine effectiveness

14.1.4 Characterise the pandemic strain virus antigenically and molecularly

### 14.2 Opportunistic

In an outbreak with widespread animal or bird influenza, but limited human cases

14.2.1 Consider conducting a study to determine

risk factors for human infection.

14.2.2 Consider conducting a study to determine the likelihood of human-to-human transmission.

In a pandemic with widespread human cases

14.2.3 Consider conducting a study to determine risk factors for human infection.

### 14.3 Debriefing

14.3.1 When the pandemic has finished, review the approach taken at all levels of response.

Make sure there is attention paid to personnel that has worked under pressure: organize debriefing meetings etc.

14.3.2 Using available evaluation and research studies, both local and international, determine opportunities for improving response strategies and implementation.

Make sure there are activities organised to remember the victims

## E. 結論

本研究では、昨年の SARS を予行演習として、新型インフルエンザの出現と大流行に対する準備と対応計画の作成を進めた。昨年までに、問題点の整理を行ったが、これらの点について、具体的な解決案を緊急にまとめる作業を進め、更に次年度前半で中間報告の提出を目指している。主な論点は、

- 1) 鳥インフルエンザをも考慮した新型インフルエンザ予測および早期検出のためのサーベイランスの充実
- 2) 新型インフルエンザワクチンの緊急開発、増産、接種体制の確立
- 3) 抗ウイルス剤の備蓄と有効なしよう方法の確立
- 4) 医療サービスの確保と安全な日常生活維持の確保であり、さらに
- 5) これらに関する国際協力の具体的な計画案のまとめである。これらの健康問題の危機管理対応に基づいて、健康被害によって起こる社会機能の麻痺・崩壊を防ぐ体制の確立が最終目的である。

一方、昨年末から、日本を含む東アジア全体で鳥強毒型 H5N1 インフルエンザが大流行し、ベトナムとタイでは人への感染例も報告されている。膨大な数の鶏が感染を受け、更にこれらに接触した人の人数も膨大となるので、隠れた健康被害が懸念される。

更に、熱帯・亜熱帯地域におけるヒトのインフルエンザ流行期と重なることから、重感染によるヒト型の強毒新型インフルエンザが出現することも強く懸念される。

一方、鳥高病原性インフルエンザの流行は、多数の鳥が斃死するために、その存在を認知することが可能となっており、ヒトの世界への新型インフルエンザの出現以前に、何とかこれを阻止または遅らせることの可能性がある。

この様な事態から、本研究も、現在進行中の鳥インフルエンザに関連して、鳥ウイルスが人に感染することによる健康被害の発生と、新型インフルエンザへの進展を阻止するための方策・行動計画を検討した。その結果、1) ヒトへの感染原となる鳥の間でのインフルエンザを完全に征圧することそれには感染原となる疑いのある鶏を全て処分すること 2) トリと接触するリスクグループ（養鶏業、トリ処分従業員など）に対する感染防御および感染予防を徹底すること 3) 感染者の早期発見と治療ならびに 2 次感染の阻止、によって、新型インフルエンザへの進展を阻止できる可能性がある。

## F. 研究発表

### 1. 発表論文

J. McKimm-Breschkin, T. Trivedi, A. Hampson, A. Hay, A. Klimov, M. Tasihro, F. Hayden, M. Zambon  
Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to Zanamivir and Oseltamivir. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* 47, 2264-2272, 2003

N. Nakajima, Y. Asahi-Ozaki, N. Nagata, Y. Sato, F. Dizon, F.J. Paladin, R. M. Olveda, T. Odagiri, M. Tashiro, T. Sata  
SARS corona virus-infected cells in lung detected by new in-situ hybridization technique. *Jpn. J. Infect. Dis.* 56, 139-141, 2003

C. Kawakami, T. Saito, Y. Nakaya, S. Nakajima, T. Munemura, M. Saikusa, Y. Noguchi, K. Fujii, M. Takaoka, R. Ito, T. Saito, T. Odagiri, M. Tashiro  
Isolation of influenza A H1N2 viruses from an outbreak in Yokohama city during the 2001-2002 influenza season in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 56, 110-113, 2003

2. 学会発表 なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

平成15年度厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

動物インフルエンザサーベイランス体制の検討

北海道大学大学院獣医学研究科 動物疾病制御学講座 教授 喜田宏

**研究要旨：**動物インフルエンザのサーベイランスは、その本来の宿主である動物における疫学情報が得られるだけでなく、ヒトの新型インフルエンザの出現予測にも有益な情報が得られる。本研究においては、継続実施されている動物インフルエンザのグローバルサーベイランスの遂行だけではなく、分離保管されているウイルス株の系統的な保存を行い、診断用抗原やワクチン候補株として利用を目的とする。また本サーベイランスのネットワーク拡大のために、国内外の機関に対する技術指導を行う。2003年度は、日本、モンゴルにおいて渡りガモからのウイルス分離を試みた。999検体のカモの糞便から93株のインフルエンザウイルスを分離同定した。通年通り、H3型およびH4型インフルエンザウイルスが分離されたウイルスの大半を占めたが、H7型のウイルスも多数分離された。また、継続的な豚のサーベイランスにおいて、H1N2型の豚インフルエンザウイルスも分離された。また、現在までに分離保管されているH9N2インフルエンザウイルスの分子疫学解析を詳細に行い、中国国内のニワトリで流行しているウイルス株や国内で渡りガモから分離されたH9N2ウイルスの遺伝子性状、病原性を明らかにした。

**A. 研究目的**

インフルエンザウイルスに感受性がある動物としては、ニワトリ、カモ、七面鳥、馬、豚、クジラ、ミンクなどが報告されている。また、ヒトを含めたすべてのインフルエンザウイルスの遺伝子の供給源は、カモなどの野生水禽であることが今までの研究から明らかにされている。これらのことから、動物インフルエンザのグローバルサーベイランスを実施し、得られた情報やウイルス株を動物やヒトのインフルエンザの流行状況の把握や診断抗原として利用する。また本グローバルサーベイランスの拠点拡大のための技術指導を行う。

**B. 研究方法**

日本、およびモンゴルにおいて渡りガモの糞便を採取し、ウイルス分離を行った。分離されたウイルスはHAおよびNAの亜型を同定した。また、国内の養豚場から豚の鼻腔スワブ材料を定期的に採取し、同様にウイルス分離、亜型の同定を試みた。このグローバルサーベイランスで新たに得られたウイルス株は、現在までに系統保存されているウイルス株と同様に保管する。

中国国内でニワトリから分離されたH9N2インフルエンザウイルスの抗原性および遺伝子の解析を行った。本成績を当研究室ですで

に保管されているH9N2ウイルスの成績と比較し、中国の家禽で流行しているH9N2ウイルスの性状解析を行った。また、本H9N2ウイルスの病原性を調べるため、ニワトリへの接種試験を行った。さらに、本ウイルスと *Staphylococcus aureus* との混合感染実験を行い、H9N2インフルエンザウイルスの病原性に及ぼす細菌混合感染の効果を評価した。

グローバルサーベイランスによって分離保管されているウイルスのワクチン株としての有用性を検討するため、A/duck/Hokkaido/67/96(H5N4)で粘膜免疫したマウスをA/duck/Hong Kong/483/97(H5N4)で攻撃し、感染防御の有無を確認した。

**C. 研究結果**

999検体のカモの糞便から93株のインフルエンザウイルスを分離同定した。通年通り、H3型およびH4型インフルエンザウイルスが分離ウイルスの大半を占めたが、本年はH7型のウイルスも多数分離された。また、H1N2型の豚インフルエンザウイルスも分離同定された。HA亜型（15通り）とNA亜型（9通り）の組み合わせから135通りのウイルスを診断用抗原、およびワクチン候補株として保存予定であるが、本年の野外調査で得られたウイルス株も利用し、現在までに101通りのウイルス株の保管が完了した。これら

のウイルスについてはその抗原性、発育鶏卵における増殖性、生体における病原性などをデータベース化している。

昨年までに分離されたH9N2インフルエンザウイルスの遺伝子解析を実施した。その結果、1997年に香港でヒトから分離されたH5N1ウイルスの内部遺伝子の供給源と考えられているA/quail/Hong Kong/G1/97(H9N2)タイプとは別の内部遺伝子を持ったH9N2ウイルスが中国の家禽の間で受け継がれていることがわかった。また、H9N2インフルエンザウイルスはその単独感染でも筋肉や骨髄からウイルスが分離され、またその病原性は細菌との混合感染により増強されることが明らかとなった。

A/duck/Hokkaido/67/96(H5N4)で粘膜免疫したマウスはA/duck/Hong Kong/483/97(H5N4)の攻撃に対しその感染を防御した。この成績から、グローバルサーベイランスにより分離された弱毒インフルエンザウイルスのワクチン株としての有用性が再確認された。また、粘膜免疫によるIgA抗体の上昇が感染防御に大きな役割を果たしていることも確認された。

#### D. 考察

グローバルサーベイランスから得られる疫学情報およびウイルス株の有用性が本年の成績から再確認された。2004年1月に国内でも69年ぶりに高病原性鳥インフルエンザの発生が確認された。今後、グローバルサーベイランスから得られた成績およびウイルス株を、本病の侵入経路の解明、病原性の解析、予防・診断法の開発などに利用していく予定である。

また、本年はタイおよび台湾の獣医師の技術研修を実施したが、動物インフルエンザウイルスのサーベイランスの拠点を整備するために、技術的なサポートを継続的に行う予定である。その一環として、WHO動物インフルエンザネットワークにおける診断トレーニングコースを主催する予定である。

#### E. 結論

動物インフルエンザの継続的なグローバルサーベイランスは、動物とヒトのインフルエンザ対策に有益な情報とウイルス株を得ることができる。本サーベイランスの継続とサーベイランス拠点の拡大が重要である。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Liu J, Okazaki K, Ozaki H, Sakoda Y, Wu Q, Chen F, Kida H (2003) H9N2 influenza viruses prevalent in poultry in China are phylogenetically distinct from A/quail/Hong Kong/G1/97 presumed to be the donor of the internal protein genes of the H5N1 Hong Kong/97 virus. *Avian Pathol* 32: 551-560
- (2) Liu JH, Okazaki K, Shi WM, Kida H (2003) Phylogenetic analysis of hemagglutinin and neuraminidase genes of H9N2 viruses isolated from migratory ducks. *Virus Genes* 27: 291-296
- (3) Liu JH, Okazaki K, Shi WM, Wu QM, Mweene AS, Kida H (2003) Phylogenetic analysis of neuraminidase gene of H9N2 influenza viruses prevalent in chickens in China during 1995-2002. *Virus Genes* 27: 197-202
- (4) Makarova NV, Ozaki H, Kida H, Webster RG, Perez DR (2003) Replication and transmission of influenza viruses in Japanese quail. *Virology* 310: 8-15
- (5) Takada A, Matsushita S, Ninomiya A, Kawaoka Y, Kida H (2003) Intranasal immunization with formalin-inactivated virus vaccine induces a broad spectrum of heterosubtypic immunity against influenza A virus infection in mice. *Vaccine* 21: 3212-3218
- (6) Tanaka H, Park CH, Ninomiya A, Ozaki H, Takada A, Umemura T, Kida H (2003) Neurotropism of the 1997 Hong Kong H5N1 influenza virus in mice. *Vet Microbiol* 95: 1-13

##### 2. 学会発表

- (1) 「中国産家禽肉から分離されたH9N2インフルエンザウイルスのニワトリに対する病原性」岸田典子、衛藤真理子、須永裕、喜田宏 第135回日本獣医学会学術集会（2003年、東京）

#### H. 知的財産の出願、登録状況

予定なし。

新型インフルエンザのワクチンに関する研究

分担研究者 河岡義裕 東京大学 医科学研究所 教授

**研究要旨：** 2003 年 2 月、H5N1 インフルエンザウイルスがインフルエンザ様症状を示した男性（33 歳）とその長男（9 歳）から分離され、一人（父）は死亡した。原因ウイルスはニワトリに対し強毒のウイルスであった。そこで、パンデミックの危険性に対処する新たなワクチン開発の必要性から、弱毒改変型組換えウイルスを、リバーシジェネティクスを用いて作製することを試みた。得られたウイルスは、ニワトリに対し病原性を示さず、さらに発育鶏卵においてよく増殖した。すなわち、リバーシジェネティクスを用いることにより、新型インフルエンザに対するワクチン候補株を作製することが示された。

**A. 研究目的**

2003 年 2 月、H5N1 インフルエンザウイルスがインフルエンザ様症状を示した男性（33 歳）とその長男（9 歳）から分離され、一人（父）は死亡した。家族の女兒（8 歳）も肺炎で死亡したがインフルエンザによるものか否かは不明である。H5N1 ウイルスがヒトから分離されたのは 1997 年の香港におけるトリウイルスの流行以来である。遺伝子解析の結果、2003 年分離株もトリウイルス由来であったが、その内部遺伝子は 1997 年分離株のものとは異なっていた。さらに、1997 年と 2003 年分離株の間で HA 抗原性はかなり異なっていることが判明した。今回、パンデミックの危険性に対処する新たなワクチン開発の必要性から、弱毒改変型組換えウイルスを作製することを試みた。

**B. 研究方法**

A/Hong Kong/213/03(HK213; H5N1)の HA および NA 分節をリバーシジェネティクス用 pPol I プラスミドにクローニングした後、HA の開裂部位配列 (RERRRKKR) を三種類の弱毒型配列に改変した (----RETR, ----TETR,あるいは TTTTRETR)。これら改変 HA および NA と、それ以外の遺伝子が A/Puerto Rico/8/34 (PR8; H1N1)あるいは A/whistling swan/Shimane/499/83 (swan/S; H5N3)由来のウイルスをリバーシジェネティクスにより作製した。これらウイルスの病原性を発育鶏卵における最小致死濃度での平均致死時間 (MDT/MLD)、および 1 日齢鶏における脳内接種病原性指数 (ICPI: 0-2 の範囲で値が大きいほど強毒) により評価した。

**C. 研究結果**

PR8 を遺伝的背景に持つ組換えウイルスは、いずれも発育鶏卵でよく増殖した（最もよく増えるもので  $10^{10}$  EID<sub>50</sub>/ml）。またそれらの MDT/MLD は、100 時間以上で病原性も低下していた。一方、swan/S を遺伝的背景に持つウイルスは  $10^7$ - $10^8$  EID<sub>50</sub>/ml で、MDT/MLD は 60-75 時間であった。鶏における ICPI はいずれも 0.25 以下で病原性は認められなかった。すなわち、いずれの組換えウイルスも野生型 HK213 (MDT/MLD=44 時間、ICPI=1.96) に比べ病原性が著しく低下していた。

**D. 考察**

ワクチンを生産する上で、ワクチン株が弱毒でかつ発育鶏卵でよく増殖することが必須条件である。現在、これら組換えウイルスの免疫原性をマウスにて検討中である。

**E. 結論**

リバーシジェネティクスを用いることにより、野外株の病原性を弱め、さらに発育鶏卵でよく増殖するワクチン株を作製することが出来た。

**F. 研究発表**

1. 論文発表

Horimoto T, Takada A, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Goto H, Kawaoka Y. Generation of influenza A viruses with chimeric (type A/B) hemagglutinins. *J Virol* 77:8031-8038, 2003.

Takada A, Matsushita S, Ninomiya A, Kawaoka Y, Kidā H. Intranasal immunization with formalin-inactivated virus vaccine induces a broad spectrum



of heterosubtypic immunity against influenza A virus infection in mice. *Vaccine* 21:3212-3218, 2003.

Watanabe T, Watanabe A, Noda T, Fujii Y, Kawaoka Y. Exploitation of nucleic acid packaging signals to generate a novel influenza virus-based vector stably expressing two foreign genes. *J Virol* 77:10575-10583, 2003.

Horimoto T, Takada A, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y. A protective immune response in mice to viral components other than hemagglutinin in a live influenza A virus vaccine model. *Vaccine* (in press).

Horimoto T, Fukuda N, Iwatsuki-Horimoto K, Guan Y, Lim W5, Peiris M, Sugii S, Odagiri T, Tashiro M, Kawaoka Y. Antigenic Differences between H5N1 Human Influenza Viruses Isolated in 1997 and 2003. *J Vet Med Sci* (in press).

Iwatsuki-Horimoto K, Kanazawa R, Sugii S, Kawaoka Y, Horimoto T. The index influenza A virus subtype H5N1 isolated from a human in 1997 differs in its receptor binding properties from a virulent avian influenza virus. *J Gen Virol* (in press).

Shinya K, Hamm S, Hatta M, Ito H, Ito T, Kawaoka Y. PB2 amino acid at position 627 affects replicative efficiency, but not cell tropism, of Hong Kong H5N1 influenza A viruses in mice. *Virology* (in press).

Shinya K, Fujii Y, Ito H, Ito T, Kawaoka Y. Characterization of a neuraminidase-deficient influenza A virus as a potential gene delivery vector and a live vaccine. *J Virol* (in press).

Maeda Y, Goto H, Horimoto T, Takada A, Kawaoka Y. Biological Significance of the U Residue at the -3 Position of the mRNA Sequences of Influenza A Viral Segments PB1 and NA. *Virus Res* (in press).

## 2. 学会発表

河岡義裕、インフルエンザウイルス、第 26 回日本医学会総会(福岡) 2003年4月5日

河岡義裕、Enigmas of Influenza Viruses&Cells(ITALY) 2003年5月19日

河岡義裕、インフルエンザウイルスの病原性、第 50 回日本実験動物学会総会(埼玉)2003年5月31日

河岡義裕、PACKAGING MECHANISM OF INFLUENZA VIRAL RNA、Negative Strand Viruses 2003(ITALY) 2003年6月15日

堀本泰介、高田礼人、堀本研子、五藤秀男、河岡義裕、GENERATION OF INFLUENZA A VIRUSES WITH CHIMERIC(TYPE A/B)HEMAGGLUTININS、Negative Strand Viruses 2003(ITALY)2003年6月15日

五藤秀男、河岡義裕、ADDITIONAL PROCESSES EXIST THAT AFFECT HA CLEAVAGE BY A PLASMINOGEN-ACTIVATING NA、Negative Strand Viruses 2003(ITALY)2003年6月15日

堀本研子、河岡義裕、堀本泰介、DIFFERENCE IN RECEPTOR BINDING BETWEEN THE INDEX H5N1 HUMAN ISOLATE FROM 1997 AND A VIRULENT AVIAN INFLUENZA VIRUS、Negative Strand Viruses 2003(ITALY)2003年6月15日

野田岳志、相良洋、喜田宏、河岡義裕、CLOSE-UP OF INFLUENZA A VIRUS RNPS、Negative Strand Viruses 2003(ITALY)2003年6月15日

河岡義裕、インフルエンザ最近の知見、第 10 回ヘルペス感染症フォーラム(東京)2003年8月23日

五藤秀男、河岡義裕、A LOSS OF THE OLIGOSACCHARIDE CHAIN IN THE NA IS NOT A DEFINITIVE FACTOR FOR PLASMINOGEN-MEDIATED HA CLEAVAGE. 2<sup>nd</sup> Orthomyxoviruses Research Conference(U.S.A.)2003年8月21日

堀本泰介、高田礼人、堀本研子、八田正人、五藤秀男、河岡義裕、GENERATION OF INFLUENZA A VIRUSES WITH CHIMERIC(TYPE A/B)HEMAGGLUTININS、第 3 回あわじしま感染症・免疫フォーラム(兵庫)、2003年8月27日

堀本泰介、高田礼人、堀本研子、八田正人、五藤秀男、河岡義裕、Potential for use of influenza Avirus

s with chimeric(type A/B)hemagglutinins as vaccines.

Options for the Control of Influenza V(沖縄)、2003年10月10日

高田礼人、松下幸子、二宮愛、河岡義裕、喜田宏、Intranasal Immunization with Formalin-Inactivated Virus Vaccine Induces A Broad Spectrum of Heterosubtypic Immunity Against Influenza Virus Infection in Mice. Options for the Control of Influenza V(沖縄)、2003年10月10日

堀本泰介、堀本研子、藤井健、渡辺登喜子、藤井豊、河岡義裕 9本鎖インフルエンザウイルスベクター、第51回日本ウイルス学会学術集会・総会(京都)、2003年10月28日

五藤秀男、河岡義裕、A型インフルエンザノイラミニダーゼの新規機能に関する研究、第51回日本ウイルス学会学術集会・総会(京都)、2003年10月28日

村本裕紀子、高田礼人、藤井健、堀本研子、渡辺真治、喜田宏、河岡義裕、インフルエンザウイルス PB2 遺伝子分節のパッケージングと粒子形成に及ぼす影響、第51回日本ウイルス学会学術集会・総会(京都)、2003年10月28日

藤井健、高田礼人、堀本泰介、五藤秀男、堀本研子、伊藤睦美、前田寧子、八田正人、渡辺真治、伊藤啓史、伊藤壽啓、二宮愛、今井正樹、西藤岳彦、板村繁之、小田切孝人、田代真人、河岡義裕、2003年にヒトから分離された H5N1 インフルエンザウイルスの弱毒改変型 HA をもつ組換えワクチン候補株の作出、第51回日本ウイルス学会学術集会・総会(京都)、2003年10月28日

河岡義裕、インフルエンザウイルス核蛋白質複合体の構造、第26回日本分子生物学会年会(神戸)2003年12月11日

堀本研子、堀本泰介、藤井豊、河岡義裕、A型インフルエンザウイルス NS2(NEP)蛋白質の NES 配列の機能解析、

第2回感染症若手研究者沖縄フォーラム(沖縄)2004年2月12日

村本裕紀子、高田礼人、藤井健、野田岳志、堀本研子、渡辺真治、喜田宏、河岡義裕、A型インフルエンザウイルス PB2、PB1 および PA 遺伝子分節のパッケージングと粒子形成への関与、第2回感染症若手研究者沖縄フォーラム(沖縄)2004年2月12日

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

平成 15 年度厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

インフルエンザウイルス検出報告システムの改善

岡部信彦 国立感染症研究所 感染症情報センター・センター長

研究協力者： 山下和予 国立感染症研究所感染症情報センター主任研究官、  
齊藤剛仁 国立感染症研究所感染症情報センター第二室研究員、  
西藤岳彦 国立感染症研究所ウイルス第三部第一室  
小沢正次 国立感染症研究所ウイルス第三部第一室

**研究要旨** 分担研究者は、今後のインフルエンザウイルスサーベイランスに役立てるため、今年度の研究としてインフルエンザウイルス検出報告システムについて現状の問題点を解析し、システム改善について提言を行なった。1) 現在のシステムは感染症検査情報オンラインシステムで報告されたインフルエンザ情報をウイルス第三部で独自に開発したインフルエンザ情報システムで利用しているための制約があり、根本的な問題解決のためには、感染症法に基づく感染症発生動向調査における病原体サーベイランスシステムおよび病原体検査情報システム全体の見直しとともにインフルエンザウイルスサーベイランスの見直しを行う必要がある。2) 今年度は既に 2003/04 インフルエンザシーズンが始まっており、シーズン途中でのプログラム変更はできないため、運用面での改善を行ない、省力化をはかることが必要である。2) について改善を行った結果、感染症情報センターとウイルス第 3 部の間でインフルエンザウイルス分離株の情報を従来より効率的に共有することが可能となった。

## A 研究目的

インフルエンザウイルスサーベイランスにおいて地方衛生研究所で分離されたインフルエンザウイルスの情報を効率良く役立てるため、インフルエンザウイルス検出報告システムの問題点を明らかにし、システム改善について提言を行うことを目的とした。

## B 研究方法

地方衛生研究所で検出されたインフルエンザウイルスの報告が、インフルエンザウイルスのストレインサーベイランスをおこなっているウイルス第三部に届くまでの情報システムについて検証を行った。資料として 2002/03～2003/04 シーズンに各都道府県市の地方衛生研究所から感染症検査情報オンラインシステムで IDSC に報告されたインフルエンザウ

イルス検出報告を用いた。インフルエンザウイルスが検出された検体の採取週および IDSC からウイルス第三部への週毎の転送件数を集計・分析した。

### （倫理面への配慮）

本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報が含まれることはない。従って研究成果の公表にあたって個人的情報が含まれることはない。万一個人的情報が本研究の中に含まれる場合には、それに関する機密保護に万全を期するものである。

## C 研究結果

### 1. インフルエンザウイルス検出報告システム

1999/2000 シーズンまで、国内の各地方衛生研究所（地研）で検出されたインフルエンザウイルスの

報告は、1) 感染症発生動向調査における病原体サーベイランス等によるインフルエンザウイルス検出報告(病原体情報)および2) 感染症流行予測調査における分離ウイルスのHI試験成績の2系統に分かれており、1)は厚生労働行政総合情報システム(WISH)の個別システムとして構築された感染症検査情報オンラインシステムを利用して、オンラインで地研から感染症研究所(感染研)感染症情報センター(IDSC)へ、2)はFAXで地研から感染研ウイルス第三部へ送られていた。地研における省力化・報告窓口の一本化と情報還元の迅速化を目的として、2000年11月に感染症検査情報オンラインシステムにインフルエンザウイルス分離株のHI試験成績を入力できるようプログラムの追加・変更をおこない、2000/01シーズン以降、1)と2)の情報がオンライン報告に一元化され、報告受付窓口はIDSCが行ない、地研からIDSCに報告されたインフルエンザウイルス情報は、IDSCからウイルス第三部へ転送されている(図1)。

IDSCは、インフルエンザウイルスのみの報告データファイルを作成し、ウイルス第三部へ転送している(流行シーズン中は毎週1回)。ウイルス第三部ではそれらのデータを基に分離株の分与を各地研に依頼し、あらためて分離株の抗原性および遺伝子解析を行って、次シーズンワクチン株選定の基礎データとしている。

## 2. インフルエンザウイルス検出報告状況

年間に報告されるウイルス検出報告は約20,000件で、そのうちインフルエンザウイルスの報告が7,000~9,000件を占め、冬季(12月~3月)は報告の大部分がインフルエンザウイルスである。

図2に地研でインフルエンザウイルスが検出された検体の採取週とインフルエンザウイルス検出報告がウイルス第三部へ転送された週毎の検出例数を示す。2002/2003シーズンは検体採取日でみると第46週から検出され始め、ピークは2003年第4週の1,032件であった。これに対し、地研からの報告件数は第7週の1,036件がピークで、流行がほぼ終息した第15週以降にもかなりの件数が遅れて報告されていた。2002/03シーズンのデータ転送は5月末で一旦終了したが、その後2003/04シーズンの報

告が始まる前の10月までに400件以上が遅れて報告されていた。2003/04シーズンは第4週に採取された検体からの検出が最初で、ピークは2004年第4週の786件であった。これに対し、報告のピークは第9週の614件で現在もまだ毎週かなりの報告が遅れて届いている。

## D 考察

### 1. 問題点

1) 流行のピーク時までには報告がウイルス第三部まで届いた件数は2002/03シーズンが893件で総報告件数7,538件の11.8%、ピークの週までに採取された検体からの検出件数4,109件の21.7%であり、2003/04シーズンについてもピーク時までの報告件数は403件で、総報告件数3,842件(2004年第13週まで)の10.5%、ピークの週までに採取された検体からの検出件数1,880件の21.4%と少なかった。

2) 各地研から送信されたIDSCは毎日受信したデータをPCへ取り込んだ後、プリントアウトし、チェックをおこなっている。従来の病原体検出報告は1件がA4用紙1枚分の個票としてプリントされるが、インフルエンザウイルスについてはHI試験成績の情報が加わった後、1件につき2枚となっている。

3) データを受け取ったウイルス第三部は、独自に開発したインフルエンザ情報システムにデータを取り込み、地研へ分与依頼する株の選択、依頼状の作成を行っている。解析を行う株の選択は流行状況を反映させるため、できるだけ偏りのないよう行う必要があるが、現在のシステムで処理できるデータだけでは自動的にうまく選別することができないため、ウイルス第三部では個票に記載された疫学情報を参考にして株の選択を行っている。このため、IDSC側では、ピーク時には約2,000枚(1,000件)の個票をウイルス第三部へ送付するため再度プリントアウトしており、その手間と時間とコストが非常に大きなものになっていた。

4) ウイルス第三部に転送済みの報告内容に訂正が生じた場合、現在のシステムではウイルス第三部側のデータは訂正されないため、IDSC側のデータとの不一致が起こる。この齟齬を最小限にするため、

IDSC ではデータ転送前に地研の代行で訂正入力を行っており、報告のピーク時にはかなりの負担となっていた。

5) ウイルス第三部側においても、送付される大量の個票の中から必要な情報を探すために時間と手間がかかっていた。

以上の状態が過去3シーズン(2000/01、2001/02、2002/03)続いていた。

## 2. 提言

1) インフルエンザ流行がピークの1月はWHOが北半球で次シーズンに使用するインフルエンザワクチン株の選定会議を行う時期にあたり、流行ウイルス株の情報が重要な時期である。検体採取から検出報告がウイルス第三部に届くまでの時間をできるだけ短縮するため、地研が入力した検査結果を直ちに感染症情報センターとウイルス第三部で見ることができるようシステムを改善する必要がある。現在の直線型のFTPによるデータ転送システムからネットワーク型の中央にデータベースサーバーを置くシステムに変更する必要がある。

現在のシステムは感染症検査情報オンラインシステムで報告されたインフルエンザ情報をウイルス第三部で独自に開発したインフルエンザ情報システムで利用しているための制約があり、根本的な問題解決のためには、感染症法に基づく感染症発生動向調査における病原体サーベイランスシステムおよび病原体検査情報システム全体の見直しとともにインフルエンザウイルスサーベイランスの見直しを行う必要がある。

2) 根本的な解決には1)のシステムの改善が不可欠であるが、今年度は既に2003/04インフルエンザシーズンが始まっており、シーズン途中でのプログラム変更はできないため、運用面での改善を行ない、省力化をはかることが必要である。

## E 結論

提言の2)について運用面での改善として、ウイルス第三部側にもIDSCと同じ感染症検査情報オンラインシステム用のパソコンを設置し、インフルエンザウイルス検出報告分のデータについてIDSC側の感染症検査情報オンラインシステムからバックア

ップしたデータをウイルス第三部側の感染症検査情報オンラインシステムにコピーしてミラーリングを行った。

ウイルス第三部では毎週新しいデータを追加することによって、いつでも蓄積されたデータベースから過去に遡って必要な時に必要なデータの閲覧・検索・プリントを行うことができるようになった。

IDSC側でもインフルエンザ検出報告の個票を再度プリントする作業がなくなり、省力化された。

この改善により、感染症情報センターとウイルス第三部の間でインフルエンザウイルス分離株の情報を従来より効率良く共有することが可能となった。

## F 健康危険情報

特になし

## G 研究発表

1) 国立感染症研究所:特集インフルエンザ2002/03シーズン 病原微生物検出情報 24(11):281-282, 2003.

## H 知的財産権の出願・登録状況

特になし

図1. インフルエンザウイルスサーベイランスの略図

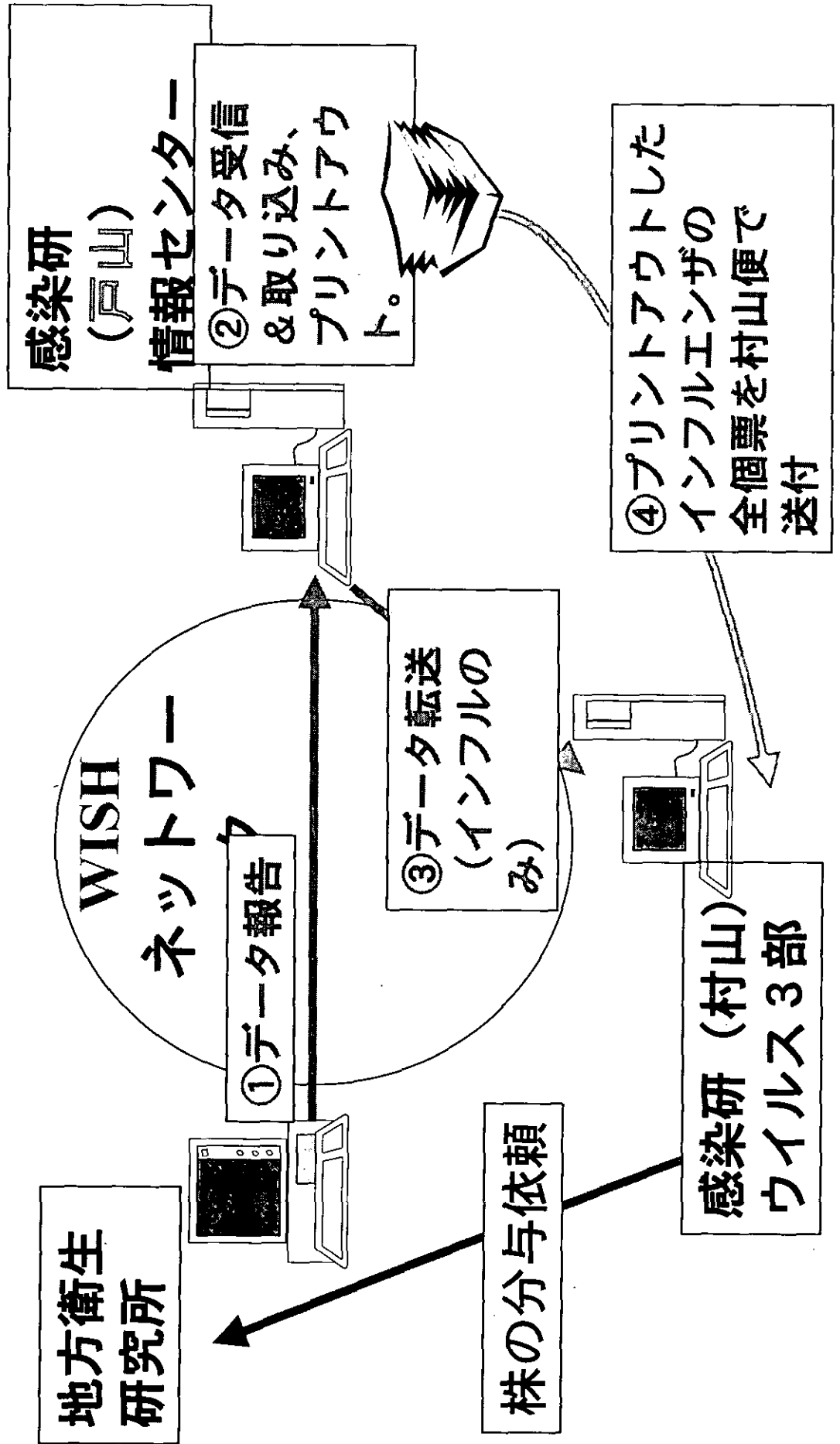
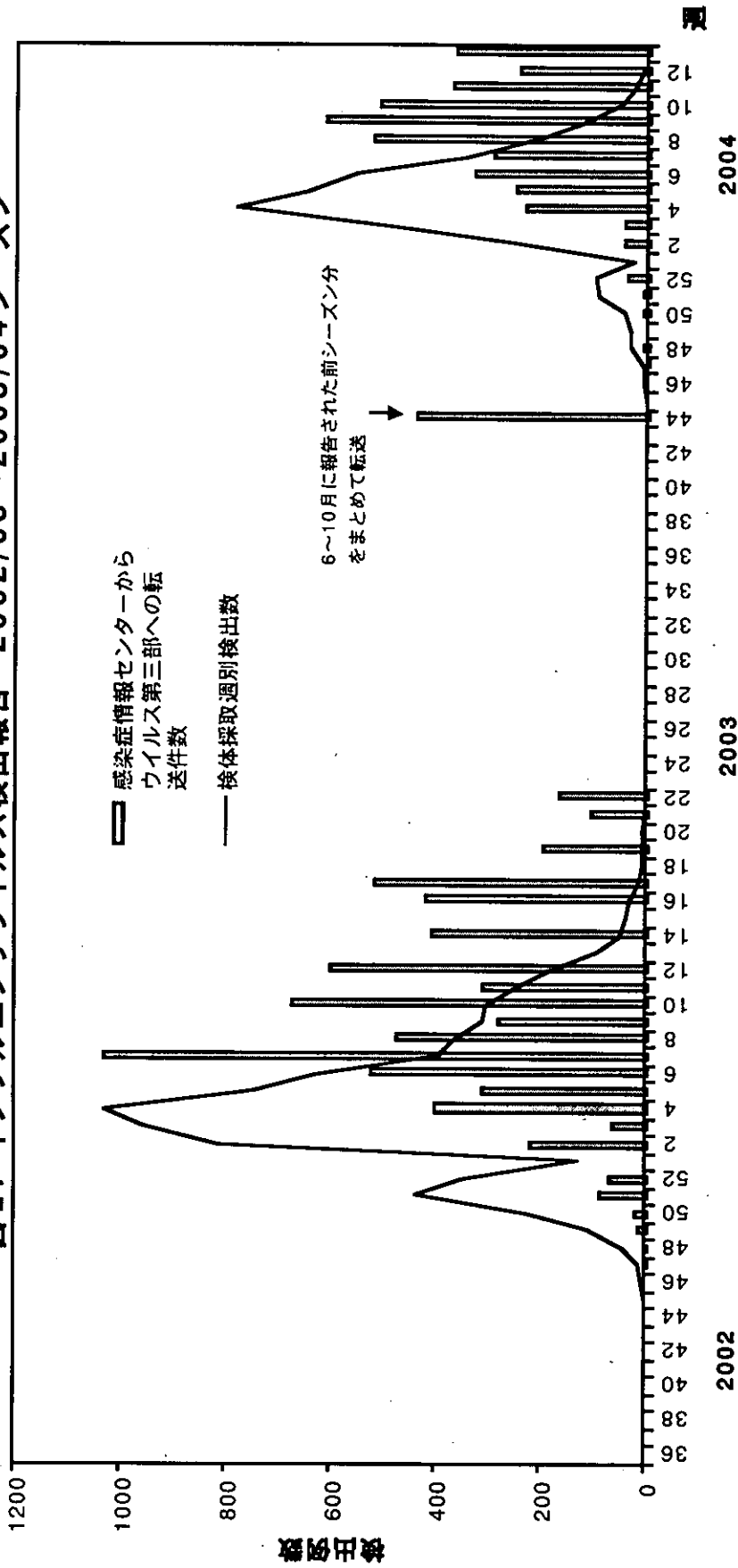


図2. インフルエンザウイルス検出報告 2002/03～2003/04シーズン



平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

インフルエンザ株サーベイランスと新型ワクチン開発、国際協力の検討

分担研究者 小田切孝人 国立感染症研究所ウイルス第 3 部第 1 室室長  
共同研究者 西藤岳彦、板村繁之、小淵正次、今井正樹、二宮愛、斉藤利憲  
(国立感染症研究所ウイルス第 3 部第 1 室)  
山下和予、多田、谷口清洲、岡部信彦  
(国立感染症研究所情報センター)  
喜田宏 (北海道大学獣医学部)  
財団法人 細菌製剤協会  
全国都道府県、政令指定都市衛生研究所

**研究要旨** 高病原性トリインフルエンザウイルス H5N1 の家禽での流行およびヒトへの感染により、新型インフルエンザウイルスの出現およびこれによるパンデミックが起こる危険性が高まってきている。感染研では、通常のインフルエンザ株サーベイランスに加えて、H5N1 ウイルスの流行に備えて実験室診断系の改良や抗血清の作製など検査・ウイルス同定系を充実させた。実験室診断においては、WHO との連携により東南アジア諸国からの依頼検査や技術供与を行った。それと並行してリバースジェネティクス法で強毒型野生株から弱毒株を作製しワクチン開発を行った。

**A. 研究目的**

2003 年の 2 月から始まった新興・再興感染症である高病原性トリインフルエンザウイルス H5N1 のヒトへの感染、重症急性呼吸器症候群 SARS の世界的な流行、そして、2004 年初めから日本を含む東アジア地域で家禽での H5N1 ウイルスの大流行および一部の国でのヒトへの感染などが次々と発生している。現在、H5N1 ウイルスのヒトからヒトへの感染は確認されていないが、家禽での流行封じ込めは難しい状況である。この結果、トリとヒトのインフルエンザウイルスの遺伝子再集合によりヒトの間で伝播できる新型ウイルスが発生する危険性が高まっている。

本研究では、高病原性トリインフルエンザウイルス H5N1 の検査系開発、ワクチン開発、さらには通常のインフルエンザサーベイランスと H5N1 対策における国際協力、さらにはそれらの問題点などについて検討した。

**B. 研究方法**

1. インフルエンザ流行株の入手および解析。  
全国の地方衛生研究所（地衛研）から国立感染

症研究所（感染研）情報センターの WISH-Net に報告されるウイルス分離数および初期抗原解析情報をもとにして、さらに詳細な抗原解析が必要と判断された株を入手し（総分離数の約 5%）、フェレット標準抗血清にて解析を行った。また、分離株の HA 遺伝子配列を決定し、系統樹を作成した。

2. H5N1 ウイルス検査

ウイルス感染が疑われる患者から採取した検体から、H5N1 ウイルスの検出には、A 型インフルエンザウイルスに共通する M 遺伝子プライマー、H5 特異的プライマー、対照として H1、H3、B ウイルス特異的プライマーをそれぞれ用いた RT-PCR を行った。並行して、検体を孵化鶏卵、MDCK 細胞に接種してウイルス分離を行った。血清中の抗体検出には、赤血球凝集抑制試験、中和試験を行った。

3 H5N1 ウイルスワクチンの開発。

高病原性トリインフルエンザウイルス H5N1 からリバースジェネティクス法を用いて、H5-HA 遺伝子を弱毒型に改変した HA-cDNA および NA-cDNA をそれぞれ高増殖株 A/PR8 株に組み換えた



弱毒型 H5N1 ウイルスを作製した。安全性試験により弱毒性を確認後に、大量培養し抗血清の作製を行った。

### C. 研究結果

#### 1 インフルエンザ株サーベイランス。

前年度に引き続き、感染研ウイルス第3部第1室（インフルエンザウイルス室）、情報センターおよび全国の地衛研との関係により、ウイルス分離株の収集および分離株の抗原解析・遺伝子解析が行われた。

平成15年度（2002/03 シーズン）の株サーベイランスの結果から見た特徴は、1) 流行の開始時期が前シーズンより約1ヶ月早く、そのピークは第2～6週目であったこと、2) ここ2シーズンはA/H1（ロシア型）、A/H3（香港型）、B型ウイルスの混合流行であったが当該シーズンはA/H1の流行はなく、A/H3とB型（2：1）の混合流行であったことがあげられる。

本年度はA/H1N1ウイルスはワクチン株A/NC/99類似株1株のみ分離された。諸外国においてもA/H1N1ウイルスによる流行は小さく、分離株はいずれもA/NC/99類似株で、特別な変異株の出現は観察されなかった。

A/H3N2ウイルスについては、ワクチン株A/PA/99類似株とHI試験でA/PA/99から4倍以上の抗原変異をした株（代表株としてはA/福建（Fujian）/411/02）が半々の比率で分離され、前年度に比べて明らかに変異株が増えていた。このことから、次年度のワクチン株はA/福建/411/02類似株の中から選定すべく、その候補株の検討が行われた。その結果、孵化鶏卵で高増殖するA/熊本/102/2002またはA/Wyoming/3/2003が製造候補株として選定され、南半球の2004年度株にはこれらが採用された。

B型インフルエンザウイルスには、B/山形/16/88で代表される山形系統とB/Victoria/2/87で代表されるVictoria系統がある。2002/03シーズンは前シーズンに引き続きVictoria系統株がわが国をはじめ世界の主流であった（国内での分離比はVictoria系統：山形系統＝97：3）。抗原解析の結果、前シーズンの代表株B/鹿児島/11/2002類似株が主流であったが、変異株も全体の16%を占めていた。一

方、少数ながら分離された山形系統株の多くは、2シーズン前のワクチン株B/Johannesburg/5/99からは抗原性が大きく変化していた。このことは、山形系統株が再び流行の主流になった場合に備えて、変異株群からワクチン候補株となる孵化鶏卵分離株を準備しておく必要があることを示している。

上記の流行株解析情報は、定期的にWISH-NETで地衛研に還元され、シーズン終了後には情報センターから発信される病原微生物検出情報（IASR）などで関連協力機関および一般市民へも還元された。

#### 2. インフルエンザ株サーベイランスにおける国際協力。

WHO西太平洋事務局（WPRO）が管轄する国々、特に中国は新型インフルエンザウイルスの発祥の地として疫学上最も重要な国である。しかし、これらの国でのインフルエンザサーベイランスシステムは殆ど機能していないのが現状である。そこで感染研、WPRO、米国CDCと連携して2000年から中国におけるサーベイランス網の整備・構築のための支援プロジェクトを進めてきた。毎年1～2回特定された省の衛生研究所を訪問し、施設面、活動面での評価を行ない、それに応じた支援策を実施した。このプロジェクトをとおして収集された中国株150～250株は定期的に感染研とCDCに送付され、それらは国内分離株とともに抗原解析や遺伝子解析が行われた。その結果、2002/03シーズンの中国分離株もわが国の流行状況と同様であることが明らかになった。これらの成績は国内株の成績とあわせてWHOワクチン株選定会議で議論され、ワクチン推奨株の決定に役立てられた。また、分離株の解析成績は中国に速やかに還元され、当地におけるインフルエンザサーベイランスに役立てられた。

#### 3. 高病原性トリインフルエンザウイルスの流行における対応と国際協力。

2003年2月に香港および福建省で高病原性トリインフルエンザウイルスH5N1の流行が起こり、2名が感染し、そのうちの1名が死亡する事例が発生した。この事例において感染研は原因ウイルスを緊急輸入し、リバースジェネティクス法で弱毒型に改変したワクチン株を作製する系を開発し

た。

その後、同年の3月から4月にかけて、オランダ、ベルギーでは別の亜型の高病原性トリインフルエンザウイルスH7N7が家禽の間で大流行し、養鶏関係者に結膜炎を主症状とする流行が起こり、1名の死者を出す事例が起こった。感染研ではこの流行に際しても、ウイルス株の緊急輸入を行いワクチン開発の準備を行った。幸いにも、本ウイルスに抗原的に近縁なカモから分離された弱毒ウイルスが存在することが分かり、これも緊急入手し、ワクチン開発に備えて増殖性や抗原性を確認しレファレンスとして保存した。

2003年12月に韓国の養鶏場で高病原性トリインフルエンザウイルスH5N1の流行が発生して以来、1月には、山口県の養鶏場でも同亜型のウイルス流行が起こり、同時期に、東南アジア諸国でも家禽の間で大流行が始まった。ベトナム、タイではヒトへも感染し、現時点で32人に感染し22人が死亡している。感染研では、ベトナムから感染者の検査依頼を受け、10検体の咽頭ぬぐい液、および気管洗浄液を入手し、RT-PCR、ウイルス分離を行い、3検体のRT-PCR陽性例とそのうちの2検体からのウイルス分離に成功した。同一患者5人の血清についてHI試験、中和試験を行った結果、1例に抗体陽性を認めた。一方、ラオスからは9検体の検査依頼を受け、同様の検査を行ったが全例陰性であった。これらの検査結果は速やかに検査依頼国に報告し、また、WHO-H5ネットワークにも報告し、情報の共有化を図った。

国内では山口の養鶏場関係者12人から採取した咽頭ぬぐい液、血清について検査を行った結果、全例陰性であり、それらは速やかに山口県および厚生労働省へ報告された。

#### 4 新型インフルエンザワクチンの開発

感染研では、2003年にH5N1に感染して死亡したヒトから分離されたウイルス(A/HK/213/2003)を用いてリバーシジェネティクス法で弱毒型高増殖性H5N1ワクチン候補株を開発した。この開発株の弱毒性をニワトリで確認後に、これを抗原とした高度免疫血清、ワクチンカバレッジ用の抗血清が作成された。

一方、2004年に感染研でベトナム検体から分離した株や、国内の養鶏場、韓国の養鶏場から分

離されたH5N1分離株を入手し、抗原解析を行った。その結果、現在流行しているH5N1ウイルスは2003年分離株やそれ以前の分離株から抗原的に大きく変化していることが明らかになった。このことから、今回のH5N1ウイルスの流行に際しては、新たに分離株からワクチン開発が必要であることがわかった。

そこで、前年度に既に構築したリバーシジェネティクス系で2004年分離株(A/Vietnam/JP1203/2004)で弱毒株を作製し、ワクチン候補株の開発およびそれを抗原とした抗血清の作製を行っている。また、今後分離されることが予想されるH5N1株についても、抗原解析を行い、抗原性の異なる株が確認されしだい同様の方法でワクチン候補株の作製を行う。

#### D. 考察

昨年に引き続き、通常の流行株のサーベイランス体制の強化とネットワーク化の整備更新を行った。さらに、今年度は重症急性呼吸器症候群SARSの世界的な流行と日本を含む東南アジア地区での高病原性鳥インフルエンザH5N1ウイルスの流行が起こり、それらに対応するための諸課題、これまで準備した系統保存事業、ブタでのトリインフルエンザウイルスに対する抗体調査など実用性にあわない対策の見直しが必要であることが明らかになってきた。

また、ワクチン開発においてはリバーシジェネティクス法が稼働していることから、技術的には短時間でワクチン候補株の作製は可能であるが、作製に用いる材料(プラスミド、GMP基準を満たした細胞)の知的所有権問題が解決されない。従って、現時点ではわが国ではヒトへの使用可能な新型ワクチン株の作製は難しい。今後、この問題解決へ向けた対策と研究を進めて行く。

#### E. 研究発表

##### 1 論文発表

1 Masaki Imai, Shinji Watanabe and Takato Odagiri (2003) Influenza B virus NS2, a nuclear export protein, directly associates with the viral ribonucleoprotein complex. Arch. Virol. 148, 1873-1884

2 Shinji Watanabe, Masaki Imai, Yoshiro Ohara and Takato Odagiri (2003) The

influenza B virus BM2 protein is transported through the *trans* Golgi network as an integral membrane protein. J. Virol. 77, 10630-10637

3 Noriko Nakajima, Yasuko Asahi-Ozaki, Noriyo Nagata, Yuko Sato, Florencio Dizon, Fem J. Paladin, Remigo M. Olveda, Takato Odagiri, Masato Tashiro and Tetsutaro Sata (2003) SARS coronavirus-infected cells in lung detected by new in situ hybridization technique. Jpn. J. Infect. Dis., 56, 139-141

4 Chiharu Kawakami, Takehiko Saito, Yoko Nakaya, Setsuko Nakajima, Tsuya Munemura, Miwako Saikusa, Yozo Noguchi, Kikushige Fujii, Mikio Takaoka, Reiko Ito, Toshinori Saito, Takato Odagiri and Masato Tashiro (2003) Isolation of influenza AH1N2 viruses from an outbreak in Yokohama city during the 2001-2002 influenza season in Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 56, 110-1131.

5 二宮愛、小田切孝人 (2003) SARS の診断。臨床医 29、1922-1929

6 小田切孝人 (2003) 近年のインフルエンザの流行状況。Pharma Medica 21, 23-28.

7 小田切孝人、二宮愛、板村繁之、西藤岳彦、宮嶋直子、森川茂、西條政幸、田代真人 SARS 診断法の開発と SARS 検査の結果。インフルエンザ、5、35-24、2004

## 2 学会発表

1 T. Odagiri Detecting human and novel influenza viruses for vaccine preparation and pandemic preparedness. US-Japan Cooperative Medical Science Program, Acute Respiratory Infections Panel, Yokohama, January 8-10, 2003.

2 S Watanabe, M Imai and T Odagiri The influenza b virus BM2 protein is transported in cytoplasm through the trans-golgi network as an integral membrane protein. 12<sup>th</sup> International Conference on Negative Strand Viruses, Pisa, Italy, June (2003)

3 小田切孝人、西藤岳彦、齊藤利憲、板村繁之、今井正樹、二宮愛、山下和予、岡部信彦、田代真人。2002/2003 シーズンのインフルエンザウ

イルス流行株について。第 24 回衛生微生物技術協議会研究会。福岡市、7 月、2003

4 小田切孝人 SARS の実験室診断 第 24 回衛生微生物技術協議会。福岡市、7 月、2003

5 小田切孝人 SARS のウイルス学的診断とワクチン開発の展望 第 7 回日本ワクチン学会名古屋、10 月 2003

6 今井正樹、渡辺真治、二宮愛、小田切孝人。リバースジェネティクス法による B 型インフルエンザウイルス BM2 変異株の作製と BM2 蛋白質の機能解析。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、京都、10 月 (2003)。

7 森川茂、板村繁之、西藤岳彦、西條政幸、小田切孝人、倉根一郎、田代真人。重症急性呼吸器症候群 (SARS) の血清診断。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、京都、10 月 (2003)。

8 板村繁之、二宮愛、西藤岳彦、森川茂、西條政幸、小田切孝人、倉根一郎、田代真人。RT-PCR 法による重症急性呼吸器症候群 (SARS) コロナウイルスの検出感度の検定。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、京都、10 月 (2003)。

9 小田切孝人、西藤岳彦、板村繁之、今井正樹、二宮愛、田代真人。2002/2003 シーズンのインフルエンザ流行株の解析と次シーズンのワクチン株。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、京都、10 月 (2003)。

10 中島典子、尾崎康子、永田典代、佐藤由子、樋口好美、小田切孝人、田代真人、佐多徹太郎。ホルマリン固定パラフィン法米剖検肺組織標本における SARS コロナウイルス感染細胞の同定。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、京都、10 月 (2003)。

11 M Imai, S Watanabe and T Odagiri Integral membrane protein BM2 of influenza B virus is a necessary component for generation of infectious virus. Options for the Control of Influenza V, Okinawa, October, 2003.

## F. 知的所有権の取得状況

なし

## 小児への抗インフルエンザウイルス剤の投与効果及び インフルエンザウイルスの流行伝播形態

分担研究者： 鈴木 宏（新潟大学大学院医歯学総合研究科  
国際感染医学講座公衆衛生学分野）

共同研究者： 斎藤 玲子、押谷 仁、坂井 貴胤（同上）

**研究要旨** 冬季のインフルエンザ感染症と同時期に流行の見られるヒトメタニウモウウイルス(human metapneumovirus, hMPV)の重感染の頻度と、それによる重症化との関連、更には抗インフルエンザ剤の効果について検討した。752 検体中インフルエンザウイルス陽性 598 例(79.5%)、hMPV 陽性 36 検体(4.8%)で認めた。hMPV の系統樹解析では全例プロトタイプ 001-1 類似株であったが、いずれにおいても入院を要する患者は無かった。hMPV とインフルエンザの混合感染は 6 歳以上の 3 例(0.4%)に認め、全例抗インフルエンザ剤内服にて解熱し、一方、インフルエンザ迅速診断陽性だが PCR 陰性、hMPV 陽性の兄弟例では同薬剤投与による症状改善は認めなかった。

厚生労働省感染症サーベイランス情報を基に地理情報システム(geographic information system、GIS)を用いインフルエンザの流行、伝播状況を解析した。インフルエンザ流行のピークは毎年東北・北海道からではなく西日本からゆっくりないしは急速に北上し、特に A/H3N2 型が変異した際には大きな流行となり、危惧される新型発生時には日本全体に短期間に伝播する事が示唆された。このことより、新型発生前の対策を早急に完備することの重要性が強く支持された。

### A. 研究目的

2001 年、Osterhaus らにより小児の急性呼吸器感染症患者より分離された新しいウイルスとして、ヒトメタニウモウウイルス(human metapneumovirus, hMPV)が登場し、小児の急性気道感染症の病因として確立した。本ウイルスが重症急性呼吸器症候群(severe acute respiratory syndrome, SARS)患者と一緒に検出され、最初は SARS の病因ともされた。同様に流行する冬季のインフルエンザ感染症との重感染の頻度、それによる重症化との関連、更には抗インフルエンザ剤の効果は不明であり、この点を検討した。更には、インフルエンザの地域

的伝播に関する情報は不明なままであり、新型インフルエンザの発生における対応に不備が残る。

我々はこれまでの流行時におけるインフルエンザの地域内伝播状況を空間的、時系列的に解析すべく、複数のインフルエンザ発生情報と地理情報とを連結する地理情報システム(geographic information system、GIS)を用い、流行、伝播システムの解明を行い、今後の感染制御の一助になる可能性の追求と、新興・再興感染症などへの危機管理システムの一部とし、感染症の予防・制御への資料を収集することを大きな目的とした。