

200500626A

厚生労働科学研究費補助金  
新興・再興感染症研究事業

新型インフルエンザへの事前準備と  
大流行発生時の緊急対応計画に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 田代真人  
平成18(2006)年3月

## 目 次

平成 17 年度

- I. 総括研究報告書
1. 新型インフルエンザへの事前準備と大流行発生時の緊急対応計画に関する研究\_\_\_\_\_ P. 1  
主任研究者：田代真人
- II. 分担研究報告書
1. 鳥インフルエンザの疫学と人への感染機構\_\_\_\_\_ P. 8  
喜田宏
2. 新型インフルエンザへの事前準備と大流行発生時の緊急対応計画に関する研究\_\_\_\_\_ P. 10  
河岡義裕
3. サーベイランスと危機管理体制の検討\_\_\_\_\_ P. 12  
岡部信彦：研究協力者 谷口清洲 木村幹男 多屋馨子 大山卓昭 砂川富正  
中島一敏 重松美加 大日康史 森兼啓太 田中政宏 多田有希  
安井良則 山下和予 斎藤剛仁 上野久美 佐藤 弘
4. ワクチン免疫原性強化技術の開発\_\_\_\_\_ P. 17  
竹森利忠：協力研究者 高橋宣聖 阿戸学 二宮愛 小田切孝人
5. ネコにおけるインフルエンザウイルスの感染機構の解析\_\_\_\_\_ P. 24  
山田章雄：協力研究者 棚林清 藤田修 堀田明豊 宇田晶彦 山本美江
6. オオクロバエの殺虫剤感受性\_\_\_\_\_ P. 29  
小林睦生：協力研究者 駒形修 葛西真治 津田良夫 富田隆史  
オオクロバエ体内における H5N1 インフルエンザウイルスの生存に関する研究\_\_\_\_\_ P. 34  
小林睦生：協力研究者 澤邊京子 佐々木年則 星野啓太 伊澤晴彦 林利則  
津田良夫 倉橋弘 棚林清 堀田明豊 山田章雄
8. 新型ウイルスの感染病理機構と予防法・治療法の開発\_\_\_\_\_ P. 41  
長谷川秀樹：協力研究者 尾崎泰子 一戸猛志 佐多徹太郎
9. 新型インフルエンザウイルス監視システムおよび H5 鳥インフルエンザウイルス診断法の開発\_\_\_\_\_ P. 49  
小田切孝人：協力研究者 影山努 小淵正次 今井正樹 二宮愛 板村繁之 齊藤利憲
10. 2003-2004 年インフルエンザシーズンに流行した香港 (AH3) 型及び B 型インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼ阻害剤に対する感受性\_\_\_\_\_ P. 53  
西藤岳彦：協力研究者 国立感染症研究所ウイルス第 3 部第 1 室  
全国都道府県等地方衛生研究所 WHO-NISN
- II. WHO の世界インフルエンザ事前対策計画 ( WHO パンデミックプラン 2005 邦訳版 ) P. 1~77

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

平成 17 年度総括研究報告書

新型インフルエンザへの事前準備と  
大流行発生時の緊急対応計画に関する研究

主任研究者 田代真人 国立感染症研究所ウイルス第 3 部 部長

**研究要旨** 現在東南アジアを中心として流行している高病原性鳥インフルエンザは、依然制圧される可能性は無く、遂に中央アジア、ヨーロッパ、アフリカにも波及した。既に 100 名以上の患者が死亡しており、何時でも人の世界に新型インフルエンザとして侵入して大流行を起こすことが危惧されている。ヒト型ウイルスへの変身の可能性が高まっていることは、遺伝子解析からも支持された。現在の H5N1 型ウイルスは宿主域と病原性が増強してきておりこれを遺伝子レベルでも確認した。従って、新型インフルエンザになった場合には、人に対しても過去に例を見ない重症化と高い致死率を示すことが予想されている。その結果、無差別多数の患者、死亡者が出現し、最も感染リスクの高い医療関係者にも多くの健康被害が生じて医療サービスの低下などの健康危機が起こることが危惧される。さらに、これらに起因する交通・物流サービスの低下による食糧やエネルギー供給、一般的な社会サービスなどの社会・経済機能や治安体制の麻痺、破綻、更には社会危機が生じることが懸念されている。本年度の研究事業から、このような事態が起こる可能性が強く示唆された。今後、これを広く周知させて国、地方、世界レベルでの対策の推進に資する予定である。

新型インフルエンザ大流行における健康被害を最小限に留め、社会経済機能を維持することは、行政に課せられた大きな責任である。この責任を果たし、社会の要請に応えるためには、予め新型インフルエンザ大流行に対する危機管理計画を作成し、これを実施しておくことが必要である。

本研究の成果は、このような事態の変化に対応して、新型インフルエンザ大流行に備えて、健康被害を最小限にとどめ、社会機能の維持を目的とした事前準備と緊急対策・行動計画の策定とその実施に必要な理論的、技術的な基盤に提供される。具体的項目として、1) 新型インフルエンザ出現予測と出現・流行動向監視及び迅速診断キットの開発、2) ウイルスの性状解析と緊急ワクチン開発・製造・供給及び効果・副作用のモニター、3) 抗ウイルス剤の備蓄と使用方法及び効果・副作用・耐性ウイルスのモニター、4) 緊急医療サービスの確保、5) 感染病理機構の解明と治療方法の開発、6) 公衆衛生的な介入及び社会危機管理のための準備と緊急対応、について、国レベル、地方レベル、国際レベルにおいて、わが国が緊急に行うべき具体的な行動計画をまとめ、またその実施のための科学的基盤と応用技術を確認を進めた。

**研究組織**

主任研究者

田代真人

国立感染症研究所  
ウイルス第 3 部部長

山田章雄

国立感染症研究所獣医科学部部長

小林睦生

国立感染症研究所

昆虫医科学部部長

長谷川秀樹

国立感染症研究所感染病理部室長

分担研究者

小田切孝人

国立感染症研究所

喜田 宏

北海道大学大学院獣医学研究科教授

ウイルス第 3 部第 1 室長

河岡義裕

東京大学大学院医学研究科教授

西藤岳彦

動物衛生研究所感染病研究部

岡部信彦

国立感染症研究所

主任研究員

感染症情報センターセンター長

竹森利忠

国立感染症研究所免疫部部長

## A. 研究目的

2003 年末以来東南アジアを中心として流行している高病原性鳥インフルエンザは、依然制圧される可能性は無く、2005 年後半からは、中国奥地から中央シベリア、インド、中東、ヨーロッパ、アフリカへも拡大を続けている。何時でも人の世界に新型インフルエンザとして侵入して大流行を起こすことが危惧されている。特に現在の H5N1 型ウイルスは宿主域と病原性が昂進してきているため、新型インフルエンザになった場合には、人に対しても過去に例を見ない重症化と高い致死率を示すことが予想されている。その結果、無差別多数の患者、死亡者が出現し、最も感染リスクの高い医療関係者にも多くの健康被害が生じて医療サービスの低下などの健康危機が起こることが危惧される。さらに、これらに起因する交通・物流サービスの低下による食糧やエネルギー供給、一般的な社会サービスなどの社会・経済機能や治安体制の麻痺、破綻、更には社会危機が生じることが懸念されている。

新型インフルエンザ大流行における健康被害を最小限に留め、社会経済機能を維持することは、行政に課せられた大きな責任である。この責任を果たし、社会の要請に応えるためには、予め新型インフルエンザ大流行に対する危機管理計画を作成し、これを実施しておくことが必要である。WHO でも各国に準備計画の確立を強く求めており、2004 年 8 月には厚生労働省の新型インフルエンザ対策小委員会が我が国のガイドラインをまとめた。

本研究の目的は、このような事態の変化に対応して、新型インフルエンザ大流行に備えて、健康被害を最小限にとどめ、社会機能の維持を目的とした事前準備と緊急対策・行動計画の策定とその実施に必要な理論的、技術的な基盤を確立することにある。

その結果、1) 新型インフルエンザ出現機序の解明とそれに基づく出現予測方法の開発、2) 新型インフルエンザ出現を検知する監視体制の確立、3) LAMP 法による新型インフルエンザ迅速診断キットの開発・改良・普及、4) 新型ワクチンの緊急開発・増産・供給・接種体制の確立、5) 抗ウイルス剤の有効な備蓄方法と使用方法の確立、6) 緊急医療サービス確保体制の確立、7) 感染病理機構の解明に基づく有効かつ安全な予防方法（経鼻投与ワクチン開発）と治療方法の開発、8) 健康危機管理、社会危機管理体制の整備が行われ、新型インフルエンザ大流行による健

康被害の最小化と、社会・経済機能の崩壊を防止することが期待される。

## B. 研究方法

### 1) 新型インフルエンザ出現機序の解明

(1) 人獣共通感染症としてインフルエンザが宿主域種を越える要因と感染伝播機構を分子レベルで検討した。

即ち、鳥からブタ、鳥からヒト、ブタからヒト、ヒトからヒトについて、それぞれのウイルス伝播機構と、その違いに関わる宿主因子を、リバーズジェネティクスを駆使して、動物実験で解析した。

(2) ウイルス糖タンパク側のレセプター結合特性と宿主細胞側のウイルスレセプターの結合を分子レベル、電子レベルで解析し、宿主域を超えるレセプター要因を検討した。

(3) ウイルス RNA ポリメラーゼ活性発現を促進又は抑制する宿主因子の違いを、鳥、ブタ、ヒトについて解析し、種特異性を規定する宿主要因の同定を目指した。

(4) 一方、水禽類が保有する低病原性鳥インフルエンザウイルスが直接・間接的に人に馴化して、人一人感染能力を獲得する分子機構およびそれを許容する条件を解析した。自然界の鳥ウイルスおよびヒトウイルスの分子疫学的調査と、鳥ウイルスとヒト細胞馴化ウイルス、ヒト分離ウイルスの比較および感染実験による感染標的と病原性の違いを検討した。

### 2) 新型インフルエンザ出現予測方法の検討

1) の結果に基づいて、種を超える要因に対する監視方法論を確立し、鳥ウイルスの動向調査を行うことにより、新型ウイルス出現の可能性とその性状推定方法を検討し、新型インフルエンザ出現予測の方法論を検討した。

### 3) 新型インフルエンザ出現・流行動向監視体制の確立

現行の病原体サーベイランスおよび疾患サーベイランス体制を拡充し、必要な試薬、標準品、抗体、プライマーなどの事前作製を行い、新型ウイルスの早期検知と同定、流行動向に対する調査・監視体制の確立を進めた。

#### 4) 新型インフルエンザ迅速診断キットの開発

先に SARS 迅速診断用に開発した遺伝子増幅検査法である LAMP 法を全ての亜型のインフルエンザウイルスに応用して、特別な高額機器を必要とせず、迅速、簡便、安価で、感度と特異性の高い診断キットを開発・実用化を図った。これを地方衛生研究所、検疫所、医療機関等に配布し、新型インフルエンザの早期検知とモニター、診断体制を整備する。

#### 5) 新型ウイルスの性状解析と緊急ワクチン開発方法の確立および製造・供給・接種体制及び効果・副作用のモニター体制の整備

新型候補ウイルスおよび新型ウイルスについて、抗原性、抗原エピトープ、遺伝子塩基配列、糖鎖構造を詳細に検討した。

リバーシ・ジェネティクスを駆使して、HA と NA 遺伝子は新型ウイルス由来で、他の遺伝子は安全・高増殖性が確認されているワクチン製造用ウイルス株由来の弱毒ウイルスを作製する技術を確立した。この際に、病原性を規定する遺伝子部位に変異を加えて、弱毒化する。これによって、任意のウイルス製造株の作製が1週間程度で可能となる体制の確立を図った。

一方、このワクチン株を用いて、迅速に安全性と免疫原性を検証する試験方法を開発し、新型ワクチンの品質管理に応用できる迅速体制を検討した。

さらに、ワクチンの大量製造、効率の良い配布供給体制と集団接種等のワクチン接種体制のあり方を検討した。

#### 6) 鳥インフルエンザウイルスおよび新型ウイルスのヒトに対する感染病理機構の解明

ヒトに対する鳥インフルエンザウイルス感染の発症病理機構の実態を検討した。特に小児・若年者に健康被害が多い理由を検討した。検討項目は、ウイルス感染とサイトカイン・ケモカイン誘導の分子機構、病原性発現とそれに関与する宿主因子の同定および宿主応答の実態、ウイルス病原性の分子基盤、宿主の免疫応答と感染防御免疫などについて解析した。これには、タイ、ベトナムの現地機関との共同研究により、患者材料と剖検材料の提供を受けて、免疫病理、免疫電顕、サイトカインやケモカインの発現量

を検討した。

#### 7) 次世代の新型インフルエンザワクチンの開発研究

まず、従来の概念にとらわれず新しい発想で、有効かつ安全なインフルエンザワクチンの開発を行い、新型ワクチンにも即応できるように準備した。

6)の結果に基づいて、より効果の高いワクチンの開発設計を行った。具体的には、全粒子不活化ワクチンの経鼻投与により、広い範囲に交叉する局所粘膜免疫を誘導する新しいワクチン接種法の基礎研究を動物レベルで行った。この結果を持って、さらに臨床試験の準備を行った。

一方、現行ワクチンの免疫原性を高めるためのアジュバントの開発研究を行った。様々な候補アジュバントについて、新型インフルエンザウイルスの抗原性、免疫原性を高めるものをスクリーニングし、安全かつ効果の高いものを選択する。次に、これを添加したワクチンを試作し、動物レベルで安全性と有効性を検証した。その結果、非臨床試験、臨床試験を企画して実施した。

さらに、自然免疫に対するモジュレーターによる感染病態の改善を図る新規治療薬の設計開発を行い、若年者における健康被害の制御法を検討した。

#### 8) 抗ウイルス剤の備蓄および使用方法の確立及び効果・副作用・耐性ウイルスのモニター体制の整備

ノイラミニダーゼ阻害剤とアマンタジンについて、体制ウイルスの出現機構を分子レベルで解明した。これに基づいて、耐性ウイルスのモニター方法を確立し、体系的かつ効率のよいモニター体制のあり方を検討した。また、WHO が主催する耐性ウイルスモニターネットワークに参加し、薬剤耐性、遺伝子変異部位の同定を比較検討して、適切な使用に関する勧告案を作成した。

#### 9) 公衆衛生的な介入及び社会危機管理のための準備と緊急対応のあり方の検討

新型インフルエンザ出現の時間系列に従って、隔離、検疫等の介入手段の効果を評価し、プライバシーや人権確保とのバランスを検討した。

多数の患者が出現する事態における社会危機管理のあり方と緊急対応の具体的項目を提起した。

#### 10) 机上演習の企画と実施

新型インフルエンザに対する危機対応行動計画案に基づいて、様々な業種を対象とした様々なシナリオにおける机上演習を企画、実施し、問題点の抽出と、各職種・各人のとるべき判断、行動についての訓練を実施した。

### C. 結果

東アジアを中心とした高病原性鳥インフルエンザの大流行は、ヨーロッパ、アフリカへも波及し、高い致死率を示す感染患者が出ているが、流行収束の見通しは無い。このような状況から、WHO、G7、APECをはじめ多くの国々では、人における新型インフルエンザ大流行の可能性は非常に高く、しかも高病原性ウイルスに由来する強毒ウイルスの大流行が起これば、地球環境・生活環境の変化も加わって、未曾有の健康被害と社会的な大混乱が生じるものと判断し、国の優先施策として、新型インフルエンザ大流行への準備対策を緊急に進めつつある。

#### 1) 新型インフルエンザ出現機序の解明

人獣共通感染症としてインフルエンザが宿主域種を越える要因と感染伝播機構を検討した。

即ち、鳥からヒト、ヒトからヒトについて、それぞれのウイルス伝播機構と、その違いに関わる宿主因子を検討した。

ウイルス糖タンパク側のレセプター結合特性と宿主細胞側のウイルスレセプターの結合を分子レベル、遺伝子レベルで解析し、宿主域を超えるレセプター要因を検討し、最近のトリ型ウイルスは、ヒト型に変化しつつあることを示した。

ウイルス RNA ポリメラーゼ活性発現宿主体温の違いを明確にし、最近のトリ型ウイルスはヒト型に近づきつつあることを示し、警告した。

一方、水禽類が保有する低病原性鳥インフルエンザウイルスが直接・間接的に人に馴化して、人一人感染能力を獲得する分子機構およびそれを許容する条件を解明し、自然界の鳥ウイルスおよびヒトウイルスの分子疫学的調査と、鳥ウイルスとヒト細胞馴化ウイルス、ヒト分離ウイルスの比較および感染実験による感染標的と病原性の違いを検討した。

#### 2) 新型インフルエンザ出現予測方法の検討

種を超える要因に対する監視方法論を確立し、鳥ウイルスの動向調査を行うことにより、新型ウイルス出現の可能性とその性状推定方法を検討し、新型インフルエンザ出現予測を検討した。

これらに基づいて、新型インフルエンザ早期発見のために、国内および東南アジア諸国、モンゴル等において動物インフルエンザの流行動向、流行予測方法の検討を行ない、H5N1型の危険性と新型インフルエンザ出現の可能性を警告した。

#### 3) 新型インフルエンザ出現・流行動向監視体制の確立

現行の病原体サーベイランスおよび疾患サーベイランス体制を拡充し、必要な試薬、標準品、抗体、プライマーなどの事前作製により、新型ウイルスの早期検知と同定、流行動向に対する調査・監視体制を構築しつつある。さらに、アジア諸国に対する技術移転・支援のために、研究者の派遣、交流を推進した。

#### 4) 新型インフルエンザ迅速診断キットの開発

SARS 迅速診断用に開発した遺伝子増幅検査法である LAMP 法を H5, N9 型の亜型のインフルエンザウイルスに応用し開発した。この結果、特別な高額機器を必要とせず、迅速、簡便、安価で、感度と特異性の高い診断キットを開発できた。さらに、これを改良し、ウイルス早期発見のための迅速インフルエンザウイルス検出方法（RT-PCR法のプライマー改良、LAMP法）が国内外で実用化された。

今後、これを地方衛生研究所、検疫所、医療機関等に配布し、新型インフルエンザの早期検知とモニター、診断体制を整備する。

#### 5) 新型ウイルスの性状解析と緊急ワクチン開発方法の確立および製造・供給・接種体制及び効果・副作用のモニター体制の整備

新型候補ウイルスおよび新型ウイルスについて、抗原性、抗原エпитープ、遺伝子塩基配列、糖鎖構造を詳細に検討した。

新型インフルエンザワクチンの緊急開発、緊急製造に関するリバースジェネティクスの技術基盤を改良・確立した。これによって新型ワクチン製造株の開発が2週間以内で可能となった。

このリバース・ジェネティクスを駆使して、HAとNA遺伝子は新型ウイルス由来で、他の遺伝子は安全・高増殖性が確認されているワクチン製造用ウイルス株由来の弱度ウイルスを作製する技術を確立した。この際に、病原性を規定する遺伝子部位に変

異を加えて、弱毒化した。これによって、任意のウイルス製造株の作製が1週間程度で可能となる体制を完成させた。

H5N1型ワクチンが人に対する免疫原性が低い原因を究明して、アルミアジュバントを添加することで、ワクチン力価の向上に成功し、有効な新型ワクチンの基盤を確立した。

一方、このワクチン株を用いて、迅速に安全性と免疫原性を検証する試験方法を開発し、新型ワクチンの品質管理に応用できる迅速体制を検討した。さらに、ワクチンの大量製造、効率の良い配布供給体制と集団接種等のワクチン接種体制のあり方を検討した。

これらの知見と技術を駆使・応用して、アルミアジュバント添加、ホルマリン不活化全粒子H5N1型ワクチンの開発製造をGMP条件下で行った。試験ワクチンによる非臨床試験をGLP条件下で実施し、安全性、有効性において良好な成績を得た。この我が国のワクチン戦略は、WHOでも高い評価を受けた。

これらの生成に基づいて、平成18年2月から臨床第1相試験を実施中である。

#### 6) 鳥インフルエンザウイルスおよび新型ウイルスのヒトに対する感染病理機構の解明

ヒトに対する鳥インフルエンザウイルス感染の発症病理機構の実態を検討した。

検討項目は、ウイルス感染とサイトカイン・ケモカイン誘導の分子機構、病原性発現とそれに関与する宿主因子の同定および宿主応答の実態、ウイルス病原性の分子基盤、宿主の免疫応答と感染防御免疫などについて解析した。

#### 7) 次世代の新型インフルエンザワクチンの開発研究

従来の概念にとらわれず新しい発想で、有効かつ安全なインフルエンザワクチンの開発を行い、新型ワクチンにも即応できるように準備を進めた。

現行ワクチンの免疫原性を高めるためのアジュバントの開発研究を行った。様々な候補アジュバントについて、新型インフルエンザウイルスの抗原性、免疫原性を高めるものをスクリーニングし、安全かつ効果の高い水酸化アルミニウムを選択した。次に、これを添加したワクチンを試作し、動物レベルで安全性と有効性を検証し、その結果を持って、臨床試験を企画して行なった。

抗ウイルス剤の有効性、副作用、耐性ウイルスに関する科学的基礎基盤を検討し、抗ウイルス剤の有効性と限界を明確にした。これに基づ

いて、我が国の抗ウイルス剤事前備蓄政策の妥当性、必要性、問題点を検討し、行政政策に反映させた。また、我が国の支援による国際・地域備蓄に基づいた早期封じ込め戦略が推進された。

#### 8) 抗ウイルス剤の備蓄および使用方法の確立及び効果・副作用・耐性ウイルスのモニター体制の整備

ノイラミニダーゼ阻害剤とアマンタジンについて、体制ウイルスの出現機構を分子レベルで解明した。これに基づいて、耐性ウイルスのモニター方法を確立し、体系的かつ効率のよいモニター体制のあり方を検討した。また、WHOが主催する耐性ウイルスモニターネットワークに参加し、薬剤耐性、遺伝子変異部位の同定を比較検討して、適切な使用に関する勧告案を作成した。

#### 9) 公衆衛生的な介入及び社会危機管理のための準備と緊急対応のあり方の検討

新型インフルエンザの出現を早期に阻止する、遅延させる等の可能性について、新型インフルエンザ出現の時間系列に従って、隔離、検疫等の介入手段の効果を評価し、プライバシーや人権確保とのバランスを検討した。

これに基づいて、多数の患者が出現する事態における社会危機管理のあり方と緊急対応の具体的項目を提起した。

また、新型インフルエンザ早期封じ込め戦略（地域での移動禁止と周辺への抗ウイルス剤予防投与）を検討し、WHOの戦略に組み込んだ。その結果、我が国は抗ウイルス剤のアジア地域備蓄を推進することとなった。

#### 10) 机上演習の企画と実施

新型インフルエンザに対する危機対応行動計画案に基づいて、様々な業種を対象とした様々なシナリオにおける机上演習を企画、実施し、問題点の抽出と、各職種・各人のとるべき判断、行動についての訓練を実施した。その結果、行動計画の問題点がいくつか明らかにされ、さらに詳細な検討、準備の必要性が示された。

#### 11) 国の新型インフルエンザ政策への提言

以上の成績にもとづいて、国の新型インフルエンザ対策行動計画の作成に参画し、これを進めた。新型インフルエンザ対策行動計画案の策定を行い、これを緊急提案した。これに基づいて国の対策行動計画が11月14日に厚労省から発表され、さらに各省庁において新型インフルエンザ対策本部が設置されて、国の新型インフ

ルエンザ対策が一挙に推進された。

#### D. 考察

(1) H5型高病原性ウイルスに由来する人の新型インフルエンザの大流行が危惧されている。

(2) この際には、過去に例を見ない甚大な健康被害と、社会・経済活動の麻痺・崩壊が生じる。

(3) 国際的にも新型インフルエンザ対策が緊急課題であり、我が国の国際貢献が求められている。

(4) 国内でも、国民の健康と安全の確保という危機管理問題として、新型インフルエンザの準備・対応体制を緊急に確立する必要がある。

(5) 国の新型インフルエンザ大流行対策において、事前準備、緊急対応に関する行動計画策定・実施のため必要な理論的、技術的な科学的基盤を確立し、これを行政施策に還元することが出来た。

次年度以降の課題としては、以下の点が挙げられる。

(1) 新型インフルエンザ出現機序の解明と予測方法、早期発見方法の開発・改良

(2) 新型インフルエンザ出現の監視と早期発見、早期報告体制の確立、改良

(3) 新型インフルエンザワクチンの臨床第2、第3相試験の実施と製造承認申請

(4) 抗ウイルス剤の有効性、安全性、耐性獲得機序の解明と解決方法の検討

(5) ウイルスの感染病理機構の解明

(6) ウイルス病原性の分子基盤の解明と、H5N1型ウイルスの強毒性の解明

(7) これらの成績に基づいた、患者治療、患者管理等の具体的対応方針の策定

(8) 社会危機管理体制の確立のために、新型インフルエンザ対策行動計画の改定

(9) 対策行動計画に基づいた具体的行動マニュアルの策定

#### 行政施策への貢献

(1) 国の新型インフルエンザ政策の一層の充実

(2) 公衆衛生的な介入政策、抗ウイルス剤政策、ワクチン政策、医療サービス確保の一層の充実

(3) 社会危機管理対策確立への貢献

(4) 国の国際協力、国際貢献への情報還元と政策案の提案

#### E. 結論

(1) 新型インフルエンザの出現阻止、新型ウイルスの早期検出に基づく早期封じ込め、流行拡大の遅延のための数理理論と技術基盤を確立し、これを最大限に活用した事前予防・阻止戦略を策定した。

(2) 大流行時の健康被害を最小限にとどめるために、公衆衛生的介入手段、抗ウイルス剤・ワクチン戦略、医療サービス確保のための理論的、技術的基盤を確立する方策を検討した。

(3) 社会機能・経済活動の崩壊を防止し、社会活動の維持を図るために、社会活動への影響を最小限に抑える具体的な対策戦略を提案し、社会危機管理体制の確立・維持に資することが出来た。

#### F. 研究発表

##### 1. 発表論文

新型インフルエンザ対策行動計画 厚生労働省  
平成17年11月14日

Avian influenza: food  
safety issues

WHO平成17年7月

WHO recommended N5N1  
prototypic strains for  
influenza pandemic  
vaccine development  
remain the same,

WHO 平成17年10月28日

WHO guidance on public  
health measures in  
countries experiencing  
their first outbreaks  
of H5N1 avian influenza,  
WHO 平成17年10月

Responding to the  
avian influenza  
pandemic threat:



Recommended  
strategic actions,  
WHO 平成17日9月2日

Recommended laboratory  
tests to identify  
avian influenza A  
virus in specimens  
from humans, WHO平成17年6月

WHO recommendations  
on the use of rapid  
testing for influenza  
diagnosis, WHO平成17年7月

WHO global influenza  
preparedness plan,  
WHO 平成17年8月

Monto, A. S., Macken, C., McKimm-Breschkin, J. L., Hampson, A. W., Hay, A., Klimov, A., Tashiro, M., Webster, R. G., Aymard, M., Hayden, F. G. and Zambon, M. :Influenza viruses resistant to the neuraminidase inhibitors detected during the first three years of their use. Lancet 2005

Horimoto, T., Takada, A., Fujii, K., Goto, H., Hatta, M., Watanabe, S., Iwatsuki-Horimoto, K., Ito, M., Tagawa-Sakai, Y., Yamada, S., Ito, H., 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, 2005 (in press)

Members of the World Health Organization as  
Global Influenza Program and collaborating  
laboratories; Amanda Balish (6), Niranjan Bhat  
(6), Rick A. Bright (6), Hua-lan Chen (9),  
Nancy J. Cox (6), Aaron Curns (6), Julia  
Desheva (6), Nguyen Hong Diep (19), Ruben O.  
Donis (6), Scott F. Dowell (14), Nguyen Tien  
Dung (17), Lindsay Edwards (6), Keiji Fukuda

(6), Alan Hampson (2), Nguyen Thi Hong Hanh  
(18), Scott Harper (6), Alan Hay (5), Masaki  
Imai (4), Samadhan Jadhao (6), Chun Kang (12),  
Jackie Katz (6), Alexander Klimov (6), Phuong  
Song Lien (19), Wilina Lim, et al (8), Stephen  
Lindstrom (6), Jan Mabry (6), Taronna Maines (6),  
Masaje Mase (11), Marie-Jo Medina (6), Yumi  
Matsuoka (6), Doan Nguyen (6), Ai Ninomiya (4),  
Masatsugu Obuchi (4), Takato Odagiri (4),  
Malik Peiris (10), Takehiko Saito (4), Somchai  
Sangkitporn (13), Michael Shaw (6), James M.  
Simmerman (14), Catherine Smith (6), Erica  
Spackman (7), Klaus Stohr (1), David Suarez  
(16), David E Swayne (16), Masato Tashiro (4),  
Pranee Thawatsupha (13), Terrence Tumpey (6),  
Timothy Uyeki (6), Sylvie Van der Werf (3),  
Robert Webster (7), John Wood, et al (15),  
Richard Webby (7), Xiyan Xu (6), Guan Yi (10):  
Evolution of H5N1 avian influenza viruses in  
Asia: antigenicity, antiviral drug  
sensitivity and vaccine development. Emerg.  
Infect. Dis. 2005 (in press)

The writing committee of the World Health  
Organisation (WHO) Consultation on human  
Influenza A/H5. Avian influenza A(H5N1)  
infection in humans. New Engl. J. Med.  
353:1374-1385 (2005)

鳥インフルエンザの疫学と人への感染機構

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** 高病原性鳥インフルエンザはアジア地域だけでなく、ヨーロッパ、アフリカ諸国においても発生が報告され、被害が拡大している。現在流行しているH5N1亜型のウイルスによるヒトへの感染・死亡例も報告され、新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。動物インフルエンザのサーベイランスは、当該宿主動物の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ウイルス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、鳥インフルエンザの継続的な疫学情報の収集を目的として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する。また、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染機構を明らかにする。本年は、日本、モンゴルにおいて採取された渡りガモおよびハクチョウの糞便材料からのウイルス分離を試みた。1,724検体の材料から合計58株のインフルエンザAウイルスを分離同定した。これらの分離株にはH5やH7亜型のインフルエンザウイルスは含まれていなかった。また、2005年夏、モンゴルの湖沼で野鳥の大量死が発見され、死亡したハクチョウおよびインドガンの臓器材料からウイルス分離を試みた。分離されたウイルスはH5N1亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスであることが判明し、本ウイルスは同年中国の野生水禽から分離された高病原性のH5N1ウイルス株と8つの遺伝子分節すべてが近縁であった。また、このウイルスに対して哺乳動物が高い感受性を示すことが動物試験から明らかになった。

#### A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザはアジア地域だけでなく、ヨーロッパ、アフリカ諸国においても発生が報告され、被害が拡大している。現在流行しているH5N1亜型のウイルスによるヒトへの感染・死亡例も報告されており、新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。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、ミンクなどが報告されている。また、ヒトを含む哺乳動物および鳥のインフルエンザAウイルスの遺伝子の起源は、カモなどの野生水禽のウイルス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、本研究は動物インフルエンザのグローバルサーベイランスを継続して実施し、分離同定されたウイルス株の抗原性、遺伝子性状、病原性を明らかにすることを第1の目的とする。さらにこれらの動物インフルエンザウイルスのヒトへの感染機構を解明し、新型インフルエンザ対策に役立てることを第2の目的とする。

#### B. 研究方法

日本、モンゴルにおいて採取した野生水禽の糞便からウイルス分離をした。分離されたウイルスのHAおよびNAの亜型を同定した。HAおよびNAの亜型に基づいてウイルス株を系統保存した。また、これらのウイルス株のHA遺伝子の塩基配列を決定し、HA開裂部位のアミノ酸配列を解析した。

2005年夏、モンゴルの湖沼で多数の野鳥が斃死した。死亡したハクチョウおよびインドガンの臓器乳剤からウイルス分離を試みた。分離されたウイルスの抗原性および遺伝子解析を行い、近年分離されたH5ウイルス株との相同性を比較した。また、このウイルスをマウスおよびミニブタに接種し、哺乳動物における感受性、病原性を明らかにした。

#### C. 研究結果

野生水禽の糞便1,724検体から58株のインフルエンザウイルスを分離同定した。これらのウイルスのHA亜型はH2、H3、H4、H6、H8、H9、H10、H12の8つの亜型に、NA亜型はN1からN8までの8つの亜型に区分され

た。分離されたウイルス株のHA開裂部位に塩基性アミノ酸の挿入は認められなかった。これらの分離ウイルスを当研究室のウイルス株ライブラリーに追加した。

ハクチョウおよびインドガンの臓器乳剤からH5N1亜型のインフルエンザAウイルスが合計4株分離された。これらのH5N1亜型ウイルスの遺伝子を解析した結果、同年中国青海湖でインドガンから分離されたウイルスと近縁のウイルスであることがわかった。これらの分離株の1つA/whooper swan/Mongolia/3/05(H5N1)をニワトリの静脈内に接種した結果、高病原性株であることが確認された。

A/whooper swan/Mongolia/3/05(H5N1)をマウスに接種したところ、全てのマウスが死亡した。これらのマウスの病理組織検査の結果、重篤な肺炎像が認められた。また同ウイルスをミニブタに接種して14日間観察した。豚は全く臨床症状を示さず生残した。鼻腔スワブ中のウイルス価を測定したところ、ウイルス接種の翌日からウイルス排泄が確認された。

#### D. 考察

モンゴルの湖沼において斃死した野鳥以外から高病原性鳥インフルエンザウイルスが分離されることはなかった。高病原性鳥インフルエンザウイルスが野生水禽とその営巣湖沼水の間で存続しているかを明らかにするためにも疫学調査の継続が必要である。

#### 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。また、A/whooper swan/Mongolia/3/05(H5N1)は哺乳動物に対する高い感染性と病原性を有することが明らかになった。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) Kishida N, Sakoda Y, Isoda N, Matsuda K, Eto M, Sunaga Y, Umemura T, Kida H (2005) Pathogenicity of H5 influenza viruses for ducks. *Arch Virol*, 150: 1383-1392

(2) Matsuda K, Shibata T, Sakoda Y, Kida H, Kimura T, Ochiai K, Umemura T (2005) In vitro demonstration of neural transmission of avian influenza A virus. *J Gen Virol* 86: 1131-1139

(3) Takeda S, Sbagyo A, Sakoda Y, Ishii A, Sawamura M, Sueoka K, Kida H, Mukasa K, Matsumoto K (2005) Application of carbon nanotubes for detecting anti-hemagglutinins based on antigen-antibody interaction. *Biosensors and Bioelectronics* 21: 201-205

(4) Bai G, Sakoda Y, Mweene AS, Yamada T, Minakawa H, Kida H (2005) Evaluation of the ESPLINE INFLUENZA A&B-N kit for the diagnosis of avian and swine influenza. *Microbiol Immunol*, 49, 1063-1067

(5) Bai G, Sakoda Y., Mweene AS, Fujii N, Minakawa H and Kida H (2006) Improvement of a rapid diagnosis kit to detect either Influenza A or B Virus infections. *J Vet Med Sci*, 68, 35-40

(6) Muramoto Y, Ozaki H, Takada A, Park C-H, Sunden Y, Umemura T, Kawaoka Y, Matsuda H, Kida H (2006) Highly pathogenic H5N1 influenza virus causes coagulopathy in chicken s. *Microbiol Immunol*, 50: 73-81.

(7) Isoda N, Sakoda Y, Kishida N, Bai GR, Matsuda K, Umemura T, Kida H (2006) Pathogenicity of a highly pathogenic avian influenza virus, A/chicken/Yamaguchi/7/04 (H5N1) in different species of birds and mammals. *Arch Virol*, in press

#### 2. 学会発表

(1) 「野生水禽から分離されたH7亜型鳥インフルエンザウイルスの遺伝子および抗原性解析」坂部沙織、Aaron Mweene、曾田公輔、磯田典和、岸田典子、迫田義博、喜田宏 第140回日本獣医学会学術集会（2005年、鹿児島）

(2) 「野生水禽から分離されたH7亜型鳥インフルエンザウイルスの遺伝子および抗原性解析」坂部沙織、Aaron Mweene、曾田公輔、磯田典和、岸田典子、迫田義博、喜田宏 第53回日本ウイルス学会学術集会（2005年、横浜）

#### 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への事前準備と大流行発生時の緊急対応計画に関する研究

研究者 河岡義裕 東京大学 医科学研究所 教授

**研究要旨：** H5N1 高病原性鳥インフルエンザによるパンデミックの発生に備え、人体用の H5N1 不活化ワクチンの開発が臨床試験段階にまで進んでいる。しかし、発育鶏卵がワクチンの製造母体であるため、実際のパンデミック時にはワクチン生産性、供給性が減少する可能性が高い。したがって、本研究では、ワクチン製造候補株として推奨される弱毒改変型組換えウイルス（H5N1/PR8 6:2 reassortant）の発育鶏卵での増殖性を上昇させる方法について検討した。その結果、組換えウイルスの HA-NA バランスを変えることにより（例えば、H5/PR8 7:1 reassortant）、その鶏卵での増殖性が有意に上昇することがわかった。この知見は、今後のワクチン開発に応用できる。

### A. 研究目的

H5N1 高病原性鳥インフルエンザはアジアにとどまらず、ヨーロッパ、そしてアフリカにまで拡大する様相を見せている。そして、人に対する感染、死亡者数も日々増加の一途をたどっている。また、H5N1 ウイルスに対抗する唯一の武器である抗インフルエンザ薬（NA 阻害薬：タミフル）に対する耐性ウイルスの分離が最近報告された。このような状況下のもと、H5N1 ワクチンの開発も臨床試験段階にまで進んでいる。しかし、その有効性は未知数であり、また、実際にパンデミックが起こったときの生産性、供給性に関する不安点も指摘される。すなわち、発育鶏卵をその製造母体とする現在のシステムでは、発育鶏卵の安定した供給が大前提であるが、実際のパンデミック発生時にはその供給量が減少する事態となることは容易に想像できる。一方、H5N1 不活化ワクチンの人に対する免疫原性の低さが指摘されており、十分な免疫を付与するためには、より多くの抗原量を必要とする。したがって、ワクチン製造株の発育鶏卵における高い増殖性は、ワクチンの生産性における最も重要なポイントである。本研究では、発育鶏卵での増殖性にすぐれる H5N1 ワクチン製造株の作製を目的とした。

### B. 研究方法

リバースジェネティクスにより作製した弱毒改変型組換えウイルス（H5N1/PR8 6:2 reassortant）がワクチン製造候補株として WHO から推奨されている。この組み換えウイルスは、発育鶏卵での増殖性に優れる PR8 株がドナーウイルスとして用いられている。当研究室においても、同様な手法によりワクチン製造候補株を試作したが、その鶏卵での増殖性は野生型 PR8 株と比べて時に 1/10 近くにまで減少することが判明した。そこで本研究では、

まず PR8 株の鶏卵高増殖性の分子基盤を明らかにした後、その情報をより効率良く増殖する新しいワクチンシード候補株の作出に応用した。材料と方法を以下に記載する。

- (1) リバースジェネティクスにより PR8 株（高増殖性）と WSN 株（低増殖性）との間で遺伝子交雑体を作製し、それらの鶏卵での増殖性から、PR8 株の高増殖性決定因子を同定した。
- (2) 2004 年 H5N1 人分離株 VN1203 の弱毒改変型 HA 分節と、他のいくつかの株（HK213, HK486, Kanagawa, WSN, PR8）由来の NA（すべて N1 亜型）分節あるいは stalk 領域の改変を伴う NA 変異体（VN1203 由来）をもつ、PR8 ドナー株との遺伝子交雑体を Vero 細胞で作製し、それらの鶏卵での増殖性を比較した。

### C. 研究結果

- (1) PR8 株の鶏卵高増殖性はウイルス RNA ポリメラーゼ PB1 蛋白質の機能と膜糖蛋白質（HA-NA バランス）により決定される。
- (2) 作製したいずれの NA 改変型組換えウイルス（6:2 reassortant）にも、増殖性の上昇はみられなかった。しかし、PR8 株由来の NA をもつ組換えウイルス（つまり 7:1 reassortant）では、それらに比べて 3~4 倍の有意な増殖性の上昇が認められた。

### D. 考察

7:1 reassortant（HA 分節のみ流行株由来）が、従来型の 6:2 reassortant（HA および NA 分節の両方が流行株由来）より、鶏卵増殖性に優れることが明らかとなった。前者の H5N1 ワクチンシード候補株としての応用は、後者に比べ NA 蛋白質に対する特異的防御反応が減少する可能性はあるが、組換えウイルス作成過程の簡略化、時間の節減、また発育鶏卵供給量減少時には有利に働くと考えられる。

## E. 結論

ワクチン製造候補株である弱毒改変型組換えウイルス (H5N1/PR8 6:2 reassortant) のワクチン製造母体である発育鶏卵の増殖性は、HA-NAのバランスを変更することにより上昇する。この知見は、今後のワクチン作製に応用できる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Horimoto, T., and Kawaoka, Y. Influenza: lessons from past pandemics, warnings from current incidents. *Nature Rev. Microbiol.* 3: 591-600, 2005.

Muramoto Y, Ozaki H, Takada A, Park CH, Sunden Y, Umemura T, Kawaoka Y, Matsuda H, Kida H. Highly Pathogenic H5N1 Influenza Virus Causes Coagulopathy in Chickens. *Microbiol Immunol.* 50:73-81, 2006.

Noda T, Sagara H, Yen A, Takada A, Kida A, Cheng RH, Kawaoka Y. Architecture of ribonucleoprotein complexes in influenza A virus particles. *Nature* 439:490-492, 2006.

Muramoto Y, Takada A, Fujii K, Noda T, Iwatsuki-horimoto K, Watanabe S, Horimoto T, Kida H, Kawaoka Y. Hierarchy among vRNA segments in their role in vRNA incorporation into influenza A virions *J Virol.* (in press)

Urata S, Noda T, Kawaoka Y, Yokozawa H, Yasuda J. Cellular factors required for Lassa virus budding. *J Virol* (in press)

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., and Kawaoka, Y. 2005. The development and characterization of H5 influenza virus vaccines derived from a 2003 human isolate. *Vaccine* (in press)

### 2. 学会発表

なし

## 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 17 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）  
インフルエンザパンデミックに対する危機管理体制と国際対応に関する研究  
分担研究報告書

サーベイランスと危機管理体制の検討

分担研究者 岡部信彦 国立感染症研究所感染症情報センター  
協力研究者 谷口清州\* 木村幹男\* 多屋馨子\* 大山卓昭\* 砂川富正\* 中島一敏\*  
重松美加\* 大日康史\* 森兼啓太\* 田中政宏\* 多田有希\* 安井良則\*  
山下和予\* 斎藤剛仁\* 上野久美\* 佐藤 弘\*  
(\* 国立感染症研究所感染症情報センター)

**研究要旨** 2003 年末に始まった、一連のアジアにおける H5N1 インフルエンザは、その後も感染地域は広がりつつあり、またヒトにおける感染報告例も徐々にではあるが増加しつつある。しかしながら、これまでのところ、家禽におけるアウトブレイクの規模からすれば、ヒトへの感染は少数であり、依然としてトリ型のウイルスがヒトに感染した理由は不明だが、少なくともトリからヒトへの感染効率は高いものではなく、効率的なヒト-ヒト感染の証拠はない。Global level での Pandemic phase は依然として Phase 3 である。毎日毎日報告される新たな情報を集約しつつ、必要な情報を邦訳して提供するとともに、世界保健機関などから発表される対策案などについて必要なものは、全訳を行い、本邦における準備計画について、議論を重ね、鳥インフルエンザに関する Q&A、あるいはパンデミックに関する Q&A などを作成した。また本邦における対策に対する技術支援として、サーベイランス、疫学調査、院内感染対策などに関する種々のガイドラインのドラフトを作成した。これらは、今後、すべての関係者を含んだ厚生労働省における専門家会議において更なる議論が行われて、我が国における準備計画として管制されることが期待される。

## A. 研究目的

現在、本邦を含む、世界中でパンデミックへの準備計画が進行しつつある。これらの計画は過去の経験をもとに勧められているものであるが、20 世紀に起こった 3 つのパンデミックでは、ウイルスの亜型の違いのみでなく、それぞれのインフルエンザの重症度および発生状態の特性は異なっており、また流行の広がり方や速度も地域や国により違いがあり、パンデミックの様々な特徴は通常毎回異なるものと考えられる。もちろん、またそれぞれの社会構造や経済状態、医療事情、医学の進歩などの時代背景も異なるので、それらをそのまま、現代に当てはめるこ

とはできないと思われる。

しかしながら、パンデミックプランは危機管理として考えられるべきであり、種々のシナリオを想定して、すなわち、最悪の場合には人口の 30~50% が罹患するとしたらどう対応するかということで考えられなければならない。パンデミック対策は単にワクチンの製造や抗ウイルス薬の備蓄だけの問題ではない。これら医学的介入手段の戦略的な使用方法を含め、指揮命令系統、サーベイランス、公衆衛生対応（非医学的介入）、医療機関での対応と適切な医療の提供、社会基盤の維持とリスクコミュニケーションなどを含んだ包括的な対策を計画することである。

当然のことながら、このような包括的なプランは、感染症の専門家だけで立案されるべきものではなく、すべての関係者の議論とコンセンサスにより策定されるべきものである。

本研究では、これまでに世界保健機関をはじめとして、世界各国で議論され、また出版されたパンデミックに対する事前準備に対する情報を収集検討し、また国内での状況を勘案して、国内における体制について検討し、最終的に国内におけるパンデミック事前準備の政策決定について技術的な側面から支援することを目的とする。

## B. 研究方法

これまでと同様に、世界保健機関（WHO）、あるいは世界各国から発表される、鳥インフルエンザ H5N1 の流行状況、パンデミックプランに関する種々の文書あるいはそれらのアップデートについて、持続的に収集検討した。重要と考えられるものは、適宜邦訳してウェブ上に提供したが、特に、2005年5月にWHOが全面改定を行った、WHO global influenza preparedness plan -The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics- については、本研究班の事業として邦訳を行った。

また、昨年度本研究班において策定したマトリックスをもとに、サーベイランス、疫学調査、公衆衛生対応、病院対応において、WHOの世界標準を鑑み、世界各国のプランを参考にして、本邦における詳細な計画について、研究協力者のなかで議論を行い、国レベルでの議論におけるたたき台とすべく、行動計画として整備すべき準備プランをドラフトとしてまとめた。計画策定のための準備フェーズは、WHOが2005年のガイドラインにて提示した、新しいパンデミックフェーズを使用し、議論における言語の統一を図るために、用語の定義を策定した。

研究期間中に、WHOより、フェーズ4～5にて使用すべき、"WHO pandemic influenza draft protocol for rapid response and containment" が発表

され、また、米国の The Center for Strategic & International Studies, Homeland Security Program より、"Model Operational Guidelines for Disease Exposure Control"が発表され、これまでに発表されている種々のガイドラインとともに、検討を加えた。

最終的には、すでに発表されているものに加えて、以下の文献について検討を行った。

- 1) WHO. WHO global influenza preparedness plan. - The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics-, Geneva, Switzerland, May 2005. available at [http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005\\_5/en/index.html](http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_5/en/index.html)
- 2) WHO. WHO pandemic influenza draft protocol for rapid response and containment. January 2006. available at [http://www.who.int/entity/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/RapidResponse\\_27%2001.pdf](http://www.who.int/entity/csr/disease/avian_influenza/guidelines/RapidResponse_27%2001.pdf)
- 3) The Center for Strategic & International Studies, Homeland Security Program. Model Operational Guidelines for Disease Exposure Control November 2, 2005, Washington DC, USA. Available at [http://www.csis.org/index.php?option=com\\_csis\\_pubs&task=view&id=2504](http://www.csis.org/index.php?option=com_csis_pubs&task=view&id=2504)
- 4) WHO. Avian influenza: assessing the pandemic threat, January 2006. Available at <http://www.who.int/entity/csr/disease/influenza/H5N1-9reduit.pdf>
- 5) WHO. Avian influenza ("bird flu") - Fact sheet, February 2006. Available at [http://www.who.int/mediacentre/factsheets/avian\\_influenza/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/avian_influenza/en/index.html)

## C. 研究結果

まず全体の議論のために、用語の定義を行った。新型インフルエンザウイルスの定義としては、厚生労働省「新型インフルエンザ対策報告書」により、「過去数十年間にヒトが経験したこ

とがない HA または NA 亜型のウイルスがヒトの間で伝播して、インフルエンザの流行を起こした時、これを新型インフルエンザウイルスとよぶ」と定義されているため、新型インフルエンザは、「インフルエンザパンデミック」と同義とした。WHO の定義ではフェーズ 6 が "Pandemic" とされているが、「パンデミック」は様々な意味で使用されることがあるため、混乱を避けるために「パンデミック」という用語を極力使用せず、すべての議論において、フェーズを前提として議論を行うこととする。実行上は、本邦においては、WHO フェーズのフェーズ 4 以降は、新型インフルエンザという言葉が使用されることになろうかと考えられるが、極力、フェーズにおいて議論を行うこととした。また、フェーズ 5 まではウイルス自体は鳥型である可能性があるが、混乱を避けるため、鳥インフルエンザウイルスという言葉は使用しないこととした。また、欧米で使用されている、"novel influenza virus" の訳語としての「新型インフルエンザウイルス」という言葉は、「これまでにヒトの間で検出されていなかった亜型のウイルスでヒトに感染した事例が近年明らかになったウイルス」という意味であり、H1N1、H2N2、H3N2 以外の全ての亜型の A 型インフルエンザウイルスであるので、"novel influenza virus" の訳語としての「新型インフルエンザウイルス」という言葉を使用しないこととした。

以下に各分野での議論の概略を記すが、ドラフト段階の文書を詳述することによる無用の混乱を避けるため、詳細は割愛する。

サーベイランスについては、フェーズ 4~5 においては（あるいはそれまで本邦において新型インフルエンザ患者が出現していない状況においては、フェーズ 6 早期においても）、第一例を早期に探知することを目的とする。このためには、Suspected, Probable, Confirmed といったステージ別のサーベイランスを基本として、少しでも疑われる症例を早期に探知して、検査による確認を促進するとともに、Early containment につ

なげる。このサーベイランスとともに、アウトブレイク（クラスタ）サーベイランス、症候群サーベイランス、および病院における早期アラートシステムの整備により、ステージ別のサーベイランスにより把握できなかった症例を拾い上げる努力を併用すべきである。国内でフェーズ 6 となり大流行となりつつある時期においては、早期には、発見された患者からの臨床情報を速やかにまとめて、日本国中で情報を共有するメカニズムが必要であるし、また、感染の拡大とともに、いつ、どこで、どのくらい患者が発生しているかをリアルタイムで共有するようなサーベイランスを準備しておく必要がある。

このサーベイランスにリンクする形で準備しておかねばならないのは、疫学調査のプロトコールと患者の隔離、そして接触者の隔離と予防内服による早期封じ込め戦略である。基本は、WHO のガイドラインに沿って行うことになろうかと考えるが、本邦の過密な人口密度と高度に発達した交通網を考えれば、地域的な Quarantine などの、社会距離を増大させる方策と合わせて考えられるべきであろう。

病院対応は、地域においてよりよい医療をいかに提供するかと言うことと、病院における Infection control、そして Clinical guideline について、考慮されなければならない。特に地域において、病院を機能別に階層化することとトリアージの方針については、いわゆる指定医療機関などにとらわれることなく、地域全体の特性を鑑みた上で策定される必要がある。しかしながら、SARS の時のように、大規模な発熱外来を設置すると、そこに集中が起これ、感染伝播拡大のフォーカスとなることも懸念されるために、分散を考えた計画が必要と考えられた。

現在、限られた医療資源より、暴露機会を減少させることにより、患者の発生をできるだけ押さえたいということから、社会距離の増大による対策も種々検討されている。大規模な集会の自粛や学校を含む、多数の人が集まるスペースや施設の閉鎖が考えられているが、その開始



の時期と期間もさることながら、それらの社会に及ぼす影響も考慮しておかねばならず、広い範囲での議論とコンセンサスが必要な所以である。すなわち、例えば学校における感染率 (Attack rate) は過去のパンデミックの経験からは、50%以上、90%近いという報告もあり、各国では地域で感染伝播が始まれば、間髪をおかずに閉鎖することが検討されているが、これにより両親は子どもたちのケアにより時間を割く必要がでるため、社会活動全般に対する影響も考慮される必要があり、依然として検討中である。

尚、邦訳した WHO のパンデミックプラン 2005 は添付書類に示す。

#### D. 考察

2005 年にはいり、H5N1 亜型の鳥インフルエンザウイルスの感染が地理的に拡大しつつあり、またそれにともなって、ヒトにおける感染例も増加しつつあるため、WHO とともに世界各国は警戒を強めつつある。これまでの新型インフルエンザウイルスは、すべてトリ世界からヒト世界に侵入したウイルスから発生していると考えられている。この侵入には、3 つの段階があり、まず 1 段階目は、新しい亜型のインフルエンザウイルスがヒトの身近に出現することである。2 段階目は、そのウイルスが人の体内で増殖することができて、ヒトで症状を起こすこと。そして 3 段階目は、効率的にヒトからヒトへと感染する能力を獲得することである。これらの変化は、鳥インフルエンザウイルスの遺伝子に変異をおこしたり、ヒトのインフルエンザウイルスとの間で遺伝子の組み換えをおこしたりすることによっておこると考えられている。これまでのところ、H5N1 については、第二段階にあるとされているが、トリからヒトへの感染効率は高いものではなく、効率的なヒト-ヒト感染の証拠はない。しかしながら、このような状況が続けば続くほど、ウイルスが変異によりヒトに適応する危険性が増加する。実際、トルコで分離されたウイルスには、よりヒト型に近づいている

ことを示唆する変異が発見されている。そしてこのウイルスが一旦効率的なヒト-ヒト感染能を獲得すれば、それはすなわち、香港カゼ以来の新型インフルエンザによるパンデミックの開始となり、感染伝播を止めるのは不可能に近く、もちろん、そのインパクトは SARS の比ではない。それ故、トリ-ヒト感染の状況を速やかに探知して、この段階で食い止めることがパンデミックの発生の予防につながる。今、国際的な協力・協調により、発生国における対策を支援することは、とりもなおさず我が国を含む世界中を救うことにつながるのである。そして、万が一発生した際のことを考えて、日本国民をいかにして守るかを同時に考えていかねばならない。すなわち国内対策と海外支援を戦略的に考え、包括的に計画して実行に移す必要があるのである。

過去、インフルエンザパンデミックと考えられる疾病流行の記録は 1800 年代あるが、科学的に立証されているのは 1900 年ころからで、20 世紀に入って以降、1918-19 年、1957-58 年、1968-69 年と 3 回のパンデミックが記録されている。1918 年に始まったスペインインフルエンザのパンデミック (俗に「スペインかぜ」と呼ばれる) は被害の甚大さできわだっており、実際パンデミックの議論においては、このスペイン風邪が引き合いに出されることが多いが、これは約 100 年前のことであり、20 世紀に起こった 3 つのパンデミックでは、ウイルスの亜型の違いのみでなく、それぞれのインフルエンザの重症度および発生状態の特性は異なっており、またそれぞれの社会構造や経済状態、医療事情、医学の進歩などの時代背景も異なるので、それらをそのまま、現代に当てはめることはできないと思われる。しかしながら、パンデミックプランは危機管理として考えられるべきであり、種々のシナリオを想定して、すなわち、最悪の場合は人口の 30~50%が罹患するとしたらどう対応するかということで考えられなければならない。SARS は幸運にも Isolation & Quarantine という古

典型的な方法で封じ込めに成功したが、パンデミックを同様に考えることはできない。パンデミックは、SARS と違って、一旦感染伝播が始まれば、これを止めることは極めて難しく、ある時期に爆発的に患者が発生するということである。

本研究では、感染症対策専門家という立場において、種々の議論を行い、パンデミックプランについて検討したが、いうまでもなく、実際にスペインかぜ級の甚大な被害をもたらすようなパンデミックの場合には、問題は感染症の世界だけにとどまらず、社会、経済に大きな影響をもたらすことが危惧される。これは一人一人の健康問題のみならず、日々の生活、あるいは人権問題にも発展しうるものであり、日本、ひいては世界全体の社会全体の問題として取り扱われるべきである。

現在先進諸国のみならず、アジアの各国においても、莫大な予算の元、準備が進められつつある。欧米では種々の情報共有や医療資機材のストックパイルの配布のためのネットワークが構築され、多くの医療資機材のストックパイルが構築されつつある。また同時に詳細な地域ごとの、病院毎の、あるいは社会基盤の維持のために、あるいは企業の経済活動支援のためのプランが立案されている。なるほど、いつくるかはだれにもわからない。しかしながら、パンデミックへの対応は、すべての健康危機管理に共通するものであり、パンデミックがこなかったとしても、危機管理体制だけは残るのである。世界中は、この危機管理の視点から計画を実行に移しているのである。

パンデミックプランは、研究部門のみで達成できることではない。専門家による検討と研究は、具体的な国家プランのために、科学的な根拠と議論を提供するものであり、感染症対策専門家だけで策定したプランは、机上の空論でしかないかもしれない。これらをたたき台として、国におけるすべての Stakeholders が、現実的な影響と実行性を鑑みて、作成されることが肝要である。

## E. 結論

世界では、現在インフルエンザのパンデミックは、将来起こるというものではなく、すでに切迫した問題であるという認識になりつつある。なるほど、これは明日起こるか、来年起こるか、はたまた 10 年後か、あるいは非常に軽く済むのか、スペインかぜの時のように、平均余命に影響するくらいのもものなのか、だれにもわからない。しかしながら、準備をしておけば、少なくともその被害は少なくすることが可能であろうし、最悪のシナリオに備えておくことが危機管理であるといえる。少なくとも欧米各国は、この視点から、パンデミックへの準備は、すべての健康危機に対する準備に共通し、莫大な予算も決して無駄にはならないとして、まさに、国民を守るという、National Security の一環として、国を挙げて準備をしているのである。我が国においても、昨年 11 月 14 日に行動計画が発表されたが、今後感染症の専門家のみならず、すべての社会経済的な視点からの関係者を含めて議論を行い、コンセンサスを得て、詳細なプランを策定していくことが肝要である。

## F. 健康危険情報

特記事項無し。但し、WHO からの正式な更新情報については、国立感染症研究所感染症情報センターホームページより逐次提供した。

## G. 研究発表

1. 論文発表 特記事項無し
2. 学会発表 特記事項無し

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

特記事項なし

1. 特許取得 特記事項なし
2. 実用新案登録 特記事項なし

添付文書

WHO パンデミックプラン 2005 邦訳

ワクチン免疫原性強化技術の開発

分担研究者	竹森 利忠	国立感染症研究所免疫部長
研究協力者	高橋 宜聖	国立感染症研究所免疫部主任研究官
	阿戸 学	国立感染症研究所免疫部研究員
	二宮 愛	国立感染症研究所ウイルス3部研究員
	小田切 孝人	国立感染症研究所ウイルス3部第1室長

**研究要旨** ワクチンの免疫反応は自然免疫の惹起とそれに伴う獲得免疫の成立に依存する。本研究において現行の H3N2 型不活化全粒子ワクチンに対する自然免疫反応を検討したところ、免疫初期に産生される IFN- $\alpha$ がワクチン活性の亢進に寄与する可能性が示唆された。そこで H5N1 型ワクチン刺激における IFN- $\alpha$ 産生能について A/Vietnam/1194/04 (H5N1)由来の弱毒株 NIBRG-14 を用いて検討した。この結果、NIBRG-14 の不活化全粒子の刺激で、HA と NA 以外同じ分子から構成される H1N1 型の不活化全粒子 (A/Puerto Rico/8/34)と比較し、IFN- $\alpha$ の産生が遅延する可能性が示唆された。しかし、NIBRG-14 刺激ではその後の IFN- $\alpha$ 産生量が増加した。これらの結果から、H5N1 型不活化全粒子ワクチンで誘導される自然免疫反応が、対照とした H1N1 型不活化全粒子のそれと異なる可能性が示唆された。

**A. 研究目的**

新型インフルエンザの大流行に備え、感染防御効果の優れたワクチン開発が急務とされている。しかし、流行が予測される H5N1 型の不活化全粒子ワクチンは、現行のワクチンに比べ抗体惹起能が劣るため、単独接種では十分な感染防御効果を得ることは期待できない。そのため、免疫原性低下の要因を明らかにし、それを改善する何らかの技術開発が必要である。

インフルエンザに対する免疫反応では、自然免疫因子である IFN- $\alpha$ が起点となり、獲得免疫系が賦括化される。インフルエンザ不活化全粒子ワクチンの接種により IFN- $\alpha$ が産生誘導される

ものの、産生された IFN- $\alpha$ が抗体産生を惹起するメカニズムは不明な点が多い。さらに、免疫原性が劣るとされる H5N1 型不活化全粒子ワクチンの IFN- $\alpha$ 産生誘導能についてこれまで解析されておらず、抗体惹起能の低下が IFN- $\alpha$ 産生誘導能の差に起因するか否か不明である。そこで本研究では、ワクチン接種により誘導された IFN- $\alpha$ の抗体惹起能を IFN- $\alpha/\beta$ レセプター欠損マウスを用いて明確にするとともに、H5N1 型不活化全粒子の IFN- $\alpha$ 産生誘導能を測定し、他のサブタイプの不活化全粒子のそれと比較検討した。

## B. 研究方法

(1) 使用したウイルス株と不活化全粒子の作製  
H5N1 型ワクチン株として、リバーズジェネテイクスにより HA と NA 以外を A/Puerto Rico/8/34(H1N1; PR8)由来に置き換えた弱毒株 NIBRG-14 (A/Vietnam/1194/04 由来)を使用した。マウスへのワクチン接種には、現行のワクチンに使用されている A/Wyoming/3/03(H3N2)を使用した。各ウイルスを発育鶏卵で増幅した後、ショ糖密度勾配遠心法で精製し、0.05%ホルマリンで不活化を行った。

(2) IFN- $\alpha$ / $\beta$ レセプター欠損マウスにおける中和抗体産生応答の解析

C57BL/6 バックグラウンドの IFN- $\alpha$ / $\beta$ レセプター欠損マウスと野生型 C57BL/6 マウスに、H3N2 不活化全粒子ワクチン(45  $\mu$ g HA)を腹腔内投与した。免疫後 12 日目と 29 日目に採血し、H3N2 ワクチンに対する血清抗体価を以下の HI 法と ELISA 法により測定した。

(3)ELISA 法による血中抗体価の測定

H3N2 ワクチンを 5  $\mu$ g/ml HA の濃度になるよう PBS で希釈し、ELISA プレートにコーティングした。1% BSA でブロッキングした後、段階希釈したマウス抗血清を加え 2 時間反応させた後、HRP 標識した抗マウス IgG1 または抗マウス IgG2a 抗体を添加した。発色は OPD を基質として加え、490 nm の吸光度を測定した。抗 H3N2 抗体陽性の血清を標準品として設定した吸光値カーブをもとに、抗体価をユニット値に換算した。

(4)HI 法による血中中和抗体価の測定

各抗血清を 10 倍から 20480 倍に段階希釈した後、同量の不活化全粒子ワクチン (4HA / 25  $\mu$ l) を添加した。一時間放置した後、0.5%ニワトリ赤血球溶液を 50  $\mu$ l ずつ添加し、45 分後に血球凝集を完全に阻止する血清の最高希釈率を判定した。

(5) 不活化全粒子ワクチンの IFN- $\alpha$ 産生能の測定

BALB/c マウス (メス、8 週齢) の脾臓細胞を、NIBRG-14 と A/PR/8/34 の不活化全粒子の存在下で 6 時間と 18 時間培養した後、培養上清を回収した。上清中に産生された IFN- $\alpha$ の濃度は、サンドイッチ ELISA 法 (PBL) により測定した。

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は国立感染症研究所動物実験施設の SPF 区で維持飼育を行ない、倫理面も含めて、国立感染症研究所動物実験委員会の審査を受け、その承認を得てから開始した。

## C. 研究結果

インフルエンザ不活化全粒子ワクチンの接種後に誘導される IFN- $\alpha$ の抗体惹起能を調べる目的で、IFN- $\alpha$ / $\beta$ レセプター欠損マウスに H3N2 型不活化全粒子ワクチンを接種後、14 日目と 29 日目に血清を採取し、対照マウスと産生される特異抗体価を比較した。その結果、ワクチン接種後 14 日目の抗体価は、欠損マウスにおいて有意に低下していた (図 1)。これに対し免疫 29 日目の抗体価は欠損マウスと対照群とほぼ同程度であることが明らかとなった。血清中の HI 抗体価は免疫後 14 日目で対照群において著しく上昇するが、欠損マウスではそのレベルが極めて低かった。免疫後 29 日目では対照群でのレベルは減少し、欠損マウスとの差が 1/2 となった (図 2)。これらの結果から、ワクチン接種に伴って産生される IFN- $\alpha$ は抗体産生応答の始動と HI 抗体価の上昇に必要であることが示された。

次に H5N1 型の不活化全粒子の IFN- $\alpha$ 産生誘導能を測定し、免疫原性との関連について検討した。方法として、マウス脾臓細胞を不活化全粒子の存在下で 6 時間と 20 時間培養した後、上清中に産生された IFN- $\alpha$ の濃度を ELISA 法により測定した (図 3)。この結果 H5N1 型の不活化全粒子(NIBRG-14)による刺激では、HA と NA 以外同じ分子から構成される H1N1 型の不