

(NALT)における IRF-3, IRF-7, RIG-I, MDA5, Fas, TRAIL のメッセンジャーRNA の定量を行った。NALT での IRF-7 の mRNA 発現は poly(I:C)併用ワクチンの経鼻接種又は A/PR8(H1N1)インフルエンザウイルスの感染で増加したが IRF-3 の発現は変化しなかった (図 4A and B)。細胞質内の二本鎖 RNA 受容体である RIG-I の発現は poly(I:C)併用ワクチンの経鼻接種及び A/PR8(H1N1)インフルエンザウイルスの感染で増加したが同じ細胞質内二本鎖 RNA レセプターの MDA5 はその発現に変化がなかった(図 4C)。Fas や TRAIL のメッセンジャーRNA の発現量には変化がなかった (図 4E、F)。これらの結果から IRF-7 と RIG-I の発現が二本鎖 RNA アジュバントによる粘膜免疫誘導や感染時の初期免疫誘導に関連している事が示唆された。

D. 考察

本研究により NIBRG14 H5N1 インフルエンザワクチンを二本鎖 RNA アジュバントである poly(I:C)及び Ampligen を併用し経鼻接種する事による免疫誘導能とその交叉防御効果について明らかにした。インフルエンザウイルスの感染防御にはその初期感染部位である鼻腔粘膜上皮への粘膜免疫誘導が最も効果的な方法であると示唆されてきている。不活化 H5N1 インフルエンザワクチンをフロイントアジュバントやアルミニウムアジュバントと共に皮下接種する事により非相同インフルエンザウイルス感染に対し効果が有る事が示されているが本研究において粘膜表面への A/Vietnam/1194/04 特異的 IgA 抗体はワクチンの皮下接種では誘導されず経鼻によってのみ誘導される事が示された (図 1, 2)。また粘膜面に誘導される IgA 抗体は広い交叉防御能を有し非相同株である A/HK/483/97(H5N1) や A/Indonesia/6/05(H5N1) ウイルスの感染防御が可能であった(図 3)。これまでインフルエンザウイルス感染等の粘膜を介する感染症において粘膜免疫の免疫の重要性は指摘されてきた。しかしヒトで使用するにあたり安全が確認されている粘

膜アジュバントが存在しなかった為、不活化ワクチンを用いた粘膜投与型のワクチンはいまだ実用化されていない。今回ヒトでの安全性がすでに証明されている polyI:polyC12U(Ampligen)を用いて新型インフルエンザに対応した経鼻投与型インフルエンザワクチンの開発に成功した。

E. 結論

H5N1 インフルエンザワクチンを Toll-like receptor 3 のアゴニスト合成二本鎖 RNA polyI:polyC₁₂U (Ampligen)をアジュバントに用い経鼻投与する事により非相同株である高病原性鳥インフルエンザウイルスによる攻撃感染を防御する事ができた。この研究成果は流行株の予測が不可能な新型インフルエンザに備えた防御方法が存在する事を示した。

F. 健康危険情報

WHO に報告されたヒトの高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)死亡例数/感染確定症例数 (2008年3月18日現在)

発生国：アゼルバイジャン 5/8、カンボジア 7/7、中国 20/30、ジブチ 0/1、エジプト 20/47、インドネシア 105/129、イラク 2/3、ラオス人民民主共和国 2/2、ミャンマー0/1、ナイジェリア 1/1、パキスタン 1/1、タイ 17/25、トルコ 4/12、ベトナム 52/106

合計 236/373 死亡率：63%

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hasegawa H*, Ichinohe T, Tamura S, Kurata T Development of a mucosal vaccine for influenza viruses: preparation for a potential influenza pandemic. **Expert Review of Vaccines**, April 2007, Vol. 6, No. 2, Pages 193-201.
2. Ichinohe T, Nagata N, Strong P, Tamura SI, Takahashi H, Ninomiya A, Imai M, Odagiri T, Tashiro M, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T,

- Hasegawa H*. Prophylactic effects of chitin microparticles (CMP) on highly pathogenic H5N1 influenza virus. **J Med Virol.** 2007 Jun;79(6):811-819
3. Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T and Hasegawa H* Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C₁₂U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. **Microbes and Infection** 2007 Sep;9(11):1333-40. 2007 Jul 1; [Epub ahead of print]
 4. Ishak Mde O, Martins RN, Machado PR, de Souza LL, Machado LF, Azevedo VN, Katano H, Sata T, Hasegawa H, Vallinoto AC, Ishak R. High Diversity of HHV-8 Molecular Subtypes in the Amazon Region of Brazil: Evidence of an Ancient Human Infection **J Med Virol.** 2007 Oct;79(10):1537-44.
 5. Ichinohe T, Tamura S, Kawaguchi A, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Mitchell WM, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H*. Cross-protection against H5N1 influenza virus infection afforded by intranasal administration of seasonal trivalent inactivated influenza vaccine. **J Infect Dis.** 2007 Nov 1;196(9):1313-20. Epub 2007 Oct 5.
 6. Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Sato Y, Morikawa S, Saijo M, Itamura S, Saito T, Ami Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T. Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. **Int J Exp Pathol.** 2007 Dec;88(6):403-14.
2. 学会発表
 1. 長谷川秀樹 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発 第 145 回日本獣医学会学術集会(2008 年 3 月相模原市)
 2. 永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川茂、佐藤由子、佐多徹太郎 SARS-CoV 感染動物モデルにおける加齢による免疫応答の相違 第 55 回日本ウイルス学会学術集会(2007 年 10 月札幌)
 3. 辻隆裕、長谷川秀樹、佐多徹太郎、William W Hall HTLV-1 Tax タンパク質はキャリア非依存性に核移行する第 55 回日本ウイルス学会学術集会(2007 年 10 月札幌)
 4. 伊波英克、川口晶、田口慎也、川島太郎、廣瀬仁志、池辺詠美、村上真弓、田中勇悦、澤洋文、佐多徹太郎、後藤和代、西園晃、Jeang Kuan-The, Hall William, 長谷川 秀樹 水溶性ゲルダナマイシン 17-DMAG による Tax 誘導性ガン化シグナルの遮断第 55 回日本ウイルス学会学術集会(2007 年 10 月札幌)
 5. 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、飯塚愛恵、酒井宏治、佐多徹太郎、倉根一郎、森川茂 高病原性コンゴ盆地型サル痘ウイルス(MPXV)と低病原性西アフリカ型 MPXV 感染症の診断 第 55 回日本ウイルス学会学術集会(2007 年 10 月札幌)
 6. 飛梅実、長谷川秀樹、片野晴隆、佐藤由子、中島典子、佐多徹太郎 狂犬病ウイルスのヒト生体内分布 第 55 回日本ウイルス学会学術集会(2007 年 10 月札幌)
 7. 山本典生、一戸猛志、長谷川秀樹、佐藤由子、永田典代、市野瀬志津子、吉仲由之、若林一夫、山名英明、本池紘一、田中千春、佐藤人美、山本陽子、佐多徹太郎、小田切孝人、田代真人、伊藤壽啓、大槻公一、山本直樹 ドロマイトセラミックによる H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスと SARS コロナウイルスの不活性化 第 55 回日本ウイルス学会学術集会(2007 年 10 月札幌)
 8. 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲郎、田

代真人、田口文広 高度弱毒化ワクチニアウ
イルス株 DI_s の組換え SARS ワクチンとして
の検討 第 55 回日本ウイルス学会学術集会
(2007 年 10 月札幌)

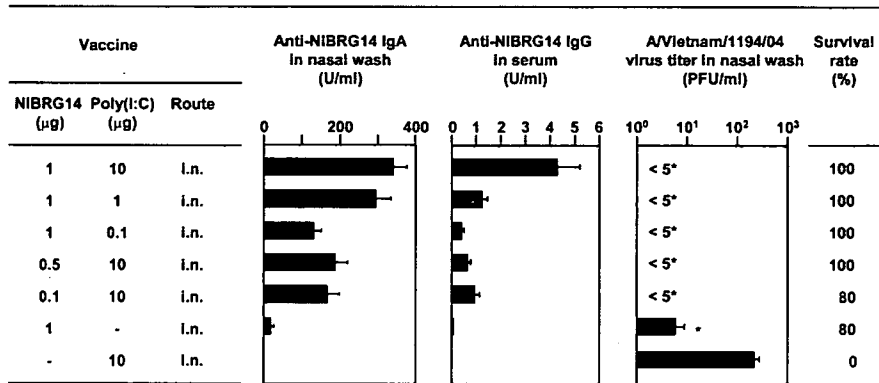
9. 長谷川秀樹、一戸猛志、田村慎一、板村繁之、
小田切孝人、田代真人、佐多徹太郎、倉田毅
2005/2006 シーズナルインフルエンザワクチ
ンの経鼻接種による高病原性鳥インフルエン
ザウイルス(H5N1)感染の交叉防御効果の検
討 第 11 回日本ワクチン学会学術集会(2007
年 11 月横浜)
10. 田村慎一、長谷川秀樹、佐多徹太郎、倉田毅
経鼻インフルエンザワクチン開発研究におけ
るモデルマウスの役割 第 11 回日本ワクチ
ン学会学術集会(2007 年 11 月横浜)
11. Kawaguchi A, Orba Y, Sawa H, Sata T, Hall
WW, Hasegawa H, Adult T cell
leukemia/lymphoma(ATLL): Exploitation of
transgenic mouse model to understand
disease pathogenesis and for the
development of rational therapeutics. 13th
International Conference on Human
Retrovirology 21st-25^h May 2008 Hakone

H. 知的財産権の出願・登録状況

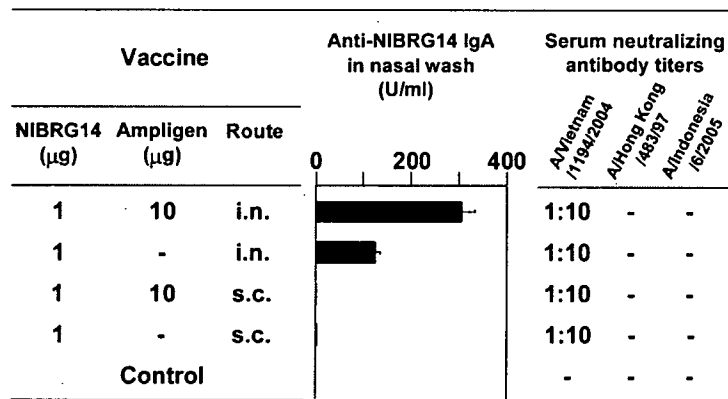
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

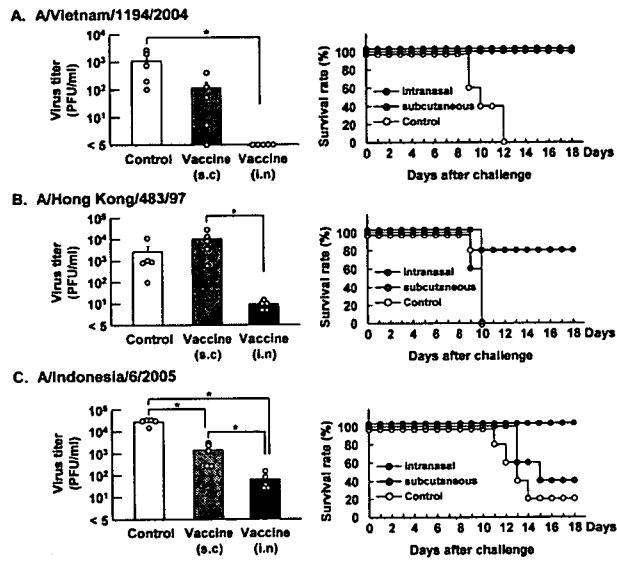
☒ 1



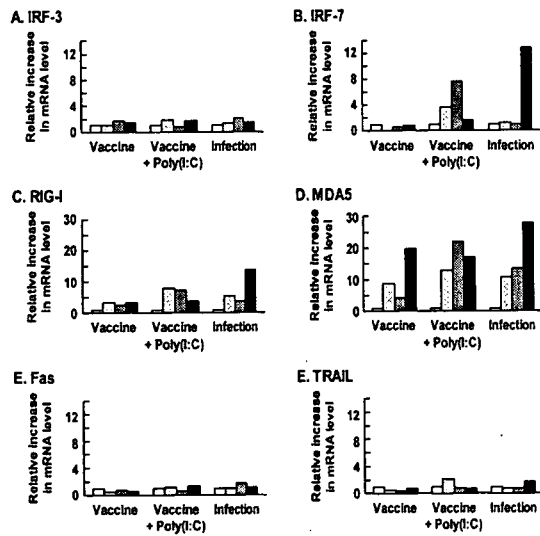
☒ 2



☒ 3



☒ 4



厚生労働科学研究費補助金
((医療技術実用化総合研究事業：基礎研究成果の臨床応用推進研究)
平成 19 年度分担研究報告書

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの臨床応用に関する研究
試作ワクチンの作製と安全性及び効果の検討

分担研究者 真鍋貞夫 (財) 阪大微生物病研究会
協力研究者 谷本武史 (財) 阪大微生物病研究会

研究要旨 有効で安全なワクチンの開発のため、経鼻投与に着目し、ヒト用流行株 HA ワクチンを抗原、二本鎖 RNA (dsRNA) をアジュバントとして、マウスを用いた接種試験を行った。その結果、粘膜において感染防御に有意な免疫応答が得られ、また血清の免疫応答も上昇していることが明らかになった。この免疫応答は、アジュバントに β 1,3-グルカンを併用することで更に高められることが明らかとなった。現在、これらの試験に用いた物質の安全性試験を実施している。

A. 研究目的

インフルエンザは、毎年抗原を変化させつつ流行を繰り返すウイルス性感染症である。本邦において、その予防のためのワクチンは皮下接種するもののみが認可されている。このワクチン接種によって血清中に中和活性を持つ IgG 抗体が誘導されるため、肺炎などの重症化の予防には有効性が高いが、感染箇所である上気道粘膜においては、IgA が感染防御の主体であり、これは皮下接種では誘導されないため、感染防御効果は十分とは言えない。そのため、感染を予防できるワクチンの開発が長年の課題となっている。粘膜への免疫誘導のためには、粘膜への抗原刺激が必須であるが、抗原単独では大量の抗原を必要とし、現実的ではない。そこで、アジュバントを添加して実用に足るワクチンの開発を目指すこととなった。

B. 研究方法

(dsRNA を添加したインフルエンザワクチンの経鼻接種試験)
BALB/c マウス (6-8 週齢♀) を一群 5 匹用い、アモバルビタール麻酔 (2mg を腹腔投与) して、インフルエンザ HA ワクチンまたはホルマリン添加全粒子ワクチン (0.1~1 μ g HA/head、抗原は A/広島/52/2005 (H3N2)) または A/New Caledonia/20/99 (H1N1) に二本鎖 RNA である Polyriboinosinic polyribocytidylic acid [poly (I:C)] または Ampligen [Poly (I:C12U)] を 0.1~10 μ g 添加した試作ワクチンをマイクロピペットで両鼻孔に点鼻投与 (2-4 μ l/鼻孔) した。3-4 週間隔で 2 回接種し、10-14 日後に鼻腔洗浄液と血清を回収した。前者からは特異的 IgA-ELISA 抗体価を、後者からは HI 抗体価を (更に一部のものに関しては IgG-ELISA 抗体価も)

測定した。

(Poly (I:C)とザイモサンを添加したインフルエンザワクチンの経鼻接種試験)

上記と同様にして、インフルエンザ HA ワクチン (0.1 μ g HA/head、抗原は A/広島/52/2005 (H3N2)) に Poly (I:C)を 0.3~3 μ g/head とザイモサン(パン酵母由来、 β 1,3-グルカンを主成分とする)を 1~3 μ g/head 添加した試作ワクチンの免疫試験を行った。免疫応答評価は上記と同様に行った。

(倫理面への配慮)

「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(文部科学省告示第 71 号、平成 18 年 6 月 1 日)に基づいた試験を行った。

C. 研究結果

(dsRNA を添加したインフルエンザワクチンの経鼻接種試験)

インフルエンザ HA ワクチン低用量 (0.1 μ g HA/head、ワクチン株は A/広島/52/2005 (H3N2)) の場合、単独では感染防御に有効と見られる程度の特異的粘膜免疫 (IgA-ELISA 抗体価 \geq 32) を誘導しなかったが、Poly (I:C) または Ampligen を 0.1 μ g/head 以上添加した群では IgA-ELISA 抗体価を抗原単独の場合より 10 倍以上増強し、感染防御レベルに達した。さらに、インフルエンザ HA ワクチン高用量 (1 μ g HA/head) の場合、Poly (I:C) を 10 μ g/head 添加した群では血清 HI 抗体価も感染防御レベル (HI \geq 40) をこえる免疫応答を引き出した。

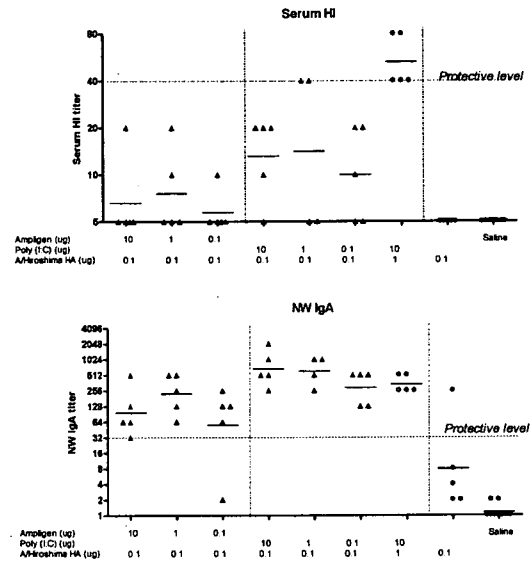


図 1 dsRNA を添加したインフルエンザ HA ワクチンの経鼻接種試験の免疫応答

また、ワクチン株を A/New Caledonia/20/99 (H1N1)、インフルエンザ HA ワクチン抗原を 1 μ g HA/head) とし、Poly (I:C) を 10 μ g/head 添加したワクチンを作製し、アジュバント無添加のホルマリン不活化全粒子ワクチンと免疫応答を比較した。Poly (I:C)添加 HA ワクチンの免疫応答は、アジュバント無添加のホルマリン不活化全粒子ワクチンの 2-4 倍程度であった。

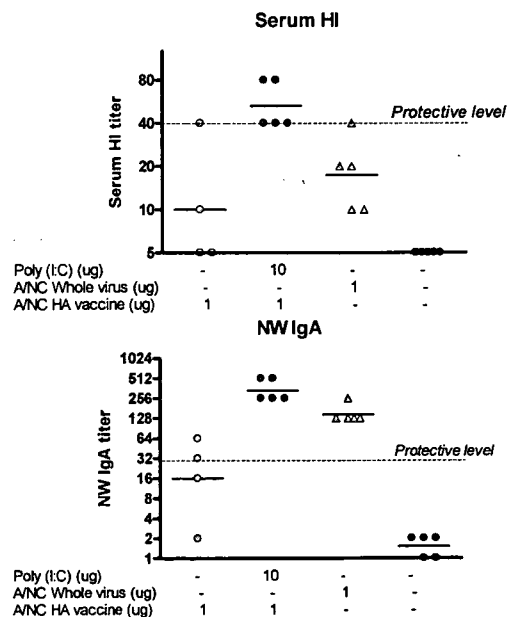


図 2 インフルエンザ HA ワクチン抗原を高用量

(1 μ g/head)とし、Poly (I:C)を 10 μ g/head としたときの経鼻接種試験の免疫応答

また、全粒子ワクチン(A/広島/52/2005 (H3N2)抗原)に Poly (I:C)を添加した場合も、特異的粘膜免疫は 10 倍以上増強された。

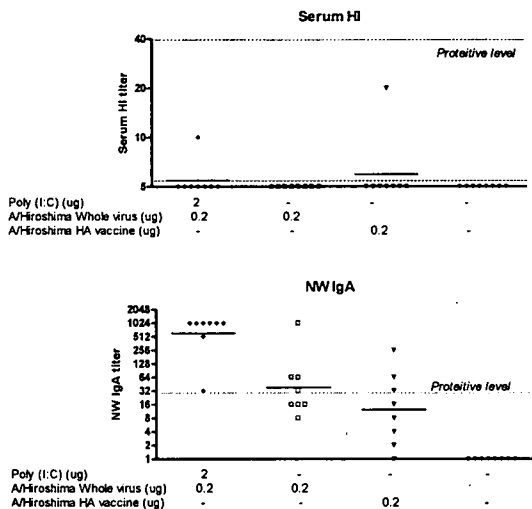


図 3

Poly (I:C)を添加したインフルエンザ全粒子ワクチン (抗原 0.2 μ g) の経鼻接種試験の免疫応答

(Poly (I:C)と β 1,3-グルカンを添加したインフルエンザワクチンの経鼻接種試験)

上記の結果を受け、Poly (I:C)を添加したインフルエンザワクチンに、さらに TLR2/9 リガンドであり、免疫応答の増強作用を持つことが知られる、ザイモサンを添加したワクチンの免疫応答を調べたところ、Poly (I:C)のみ添加した群よりも、免疫応答をさらに 3 倍程度高めることが明らかとなった。また、ザイモサンのみを添加した群での免疫応答増強作用は Poly (I:C)に劣るものであった。

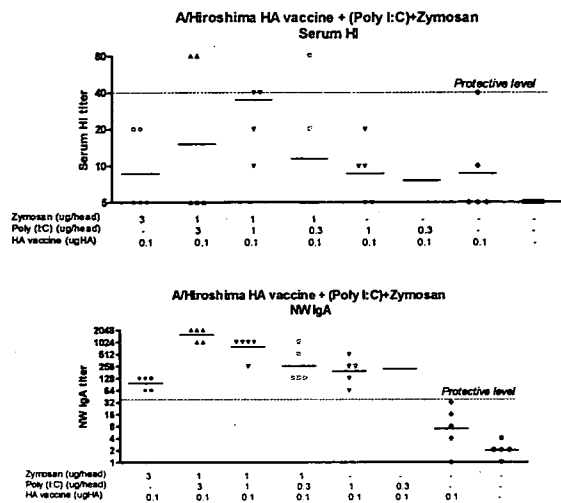


図 4 Poly (I:C)とザイモサンを添加したインフルエンザワクチンの経鼻接種試験の免疫応答

D. 考察

免疫増強効果の見られた dsRNA は、マウスにおいてヒトの免疫モデル実験の抗原投与量 (0.1 μ g/head) において免疫応答を抗原単独の場合よりも 10 倍以上高め、実用的なレベルの免疫応答を引き出した。これまで、インフルエンザ HA ワクチンを経鼻接種する場合、皮下接種の 3 倍以上の抗原が必要である (東海大・堺ら)、または CTB と同等の免疫増強作用があり、かつ毒性のないアジュバントが必要である (感染研・田村ら) と考えられている。今回の試作ワクチンは、従来と同様の抗原量で、より高い免疫原性があることが確認されたが、安全性についてより詳細に検討する必要がある、現在、ラット単回経鼻投与試験、同皮下投与試験、反復投与試験、ビーグル犬による単回経鼻投与試験、反復経鼻投与試験を行っている。

E. 結論

今回報告のアジュバントを用いることで、従来の皮下接種と同程度の抗原を経鼻免疫して、感染防御レベルの免疫応答を引き出すことができたという点で、経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンは、実用性の高いものと見られる。今後は更に安全性のデータ収集や製造を想定した品質管理の検討を進め、実用に向けた準備を行う。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

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

厚生労働科学研究費補助金
(医療技術実用化総合研究事業：基礎研究成果の臨床応用推進研究)
平成 19 年度分担研究報告書

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの臨床応用に関する研究
「ワクチン株の選択と製剤化の検討」

分担研究者 田代 真人 国立感染症研究所ウイルス第3部 部長
協力研究者 小田切孝人 国立感染症研究所ウイルス第3部 第1室長

研究要旨 我が国及び世界各国におけるインフルエンザウイルスの流行動向、抗原解析、遺伝子解析および住民の抗体保有状況ならびに昨年度のワクチン接種者における抗体応答を解析し、平成 19 年度(2007-08 シーズン)の我が国における流行予測を行い、これに基づいて、平成 19 年度向けのインフルエンザワクチンの選択を検討した。

また、WHO に協力して、世界各地で流行している H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスの抗原解析、遺伝子解析を行い、H5N1 ワクチン製造用のプロトタイプワクチン株を選定した。

さらに、現在までに世界各地で開発され、臨床試験が実施されている H5N1 型ワクチンについて、その臨床試験成績を比較検討した。その結果、アジュバント添加不活化ワクチンは、ヒトにおいて強い血清抗体の免疫誘導能を示し、さらに異なる Clade および Subclade に対する交差免疫も誘導することがわかった。しかし、現在の H5N1 型弱毒生ワクチンは、鳥型ウイルスに対するレセプターの少ないヒトの上気道での増殖効率は悪く、季節性インフルエンザワクチンに比べて免疫誘導能は明らかに低かった。したがって、新型インフルエンザに対するワクチンとしては、弱毒化生ワクチンよりは、アジュバント添加不活化経鼻投与ワクチンの期待が大きいと判断された。

A. 研究目的

1) インフルエンザウイルスは遺伝子に RNA を持つために、頻繁に突然変異を繰り返している。特に HA 遺伝子の抗原決定部位をコードする部位においては、遺伝子の変異に基づくアミノ酸置換は、ウイルス自身の増殖性にはほとんど影響を与えず、抗原変異をおこす。したがって、流行ウイルスは毎年のように変化することにな

り、これに対応するワクチン株は、毎年のように変化せざるを得ない。そこで、昨シーズンの流行ウイルスの解析に基づいて、来シーズンの流行を予測し、それに見合ったワクチン候補株の選択を検討した。

2) また、現在鳥の間で流行が拡大して、人への偶発的な感染発症が増え続けている H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスについては、新型

インフルエンザとして大流行が危惧されているので、H5N1 型プレパンデミックワクチンの開発が必要である。しかし、流行ウイルスの予想は困難であり、従って広い交差免疫を誘導できるワクチン株の選択が必要となる。そこで、その様なワクチン製造株の選択について、検討を行った、

3) さらに、経鼻粘膜免疫ワクチン開発の妥当性、方向性を確認する目的で、ワクチン製造株の選択およびその臨床応用に関する方向性を検討した。

B. 研究方法

1) 昨シーズンの流行ウイルス株について、流行動向、抗原解析、遺伝子解析および住民の抗体保有状況ならびに昨年度のワクチン接種者における抗体応答を解析し、平成 19 年度 (2007-08 シーズン) の我が国における流行予測を行い、これに基づいて、平成 19 年度向けのインフルエンザワクチンの選択を検討した。

2) 現在鳥の間で流行が拡大して、人への偶発的な感染発症が増え続けている H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスについて、WHO 世界インフルエンザ計画と協力して、世界各地で分離されたウイルス株について、流行動向、抗原解析、遺伝子解析を行い、新型インフルエンザとして出現が危惧されるウイルス株に対するプロトタイプワクチン株の選定を行った。

3) 1997 年および 2004 年以来、世界各国で開発された H5N1 型プロトタイプワクチンの臨床試験成績を比較検討し、経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンのワクチン製造株の選択およびその臨床応用に関する方向性を検討した。

C. 研究結果 および D. 考察

1) 平成 19 年度 (2007/08 シーズン) 用インフルエンザワクチン株選定の検討

わが国におけるインフルエンザワクチン製造株の決定過程は、厚生労働省健康局の依頼に応じて国立感染症研究所 (感染研) が検討し、これに基づいて厚生労働省が決定・通達している。感染研では、全国 76 カ所の地方衛生研究所と感染研、

厚生労働省結核感染症課を結ぶ感染症発生動向調査事業により得られた流行状況、および約 5,000 株に及ぶ分離ウイルスについての抗原性や遺伝子解析の成績、感染症流行予測事業による住民の抗体保有状況調査の成績などに基づいて次年度シーズンの予備的流行予測を行い、これに対するいくつかのワクチン候補株を選択する。さらにこれらについて、発育鶏卵での増殖効率、抗原的安定性、免疫原性、エーテル処理効果などのワクチン製造株としての適格性を検討する。年が明けた 1 月下旬からは、数回にわたり所内外のインフルエンザ専門家を中心とする検討委員会が開催され、上記の前シーズンの成績、およびその年のインフルエンザシーズンにおける最新の成績を検討して、次シーズンの流行予測を行う。さらに WHO により 2 月中旬に出される北半球次シーズンに対するワクチン推奨株とその選定過程、その他の外国における諸情報を総合的に検討して、3 月末までに次シーズンのワクチン株を選定する。感染研はこれを厚生労働省健康局長に報告し、それに基づいて厚生労働省医薬食品局長が決定して 5~6 月に公布している。

平成 19 年度 (2007/08 シーズン) に向けたインフルエンザワクチン株は、

A/ソロモン諸島/3/2006 (H1N1)

A/広島/52/2005 (H3N2)

B/マレーシア/2506/2004

であり、以下にその選定経過を述べる。

1. A/ソロモン諸島/3/2006 (H1N1)

わが国での A/H1N1 亜型ウイルスの流行規模は小さく、現時点で 576 株が分離され全分離株の 12% を占める程度であった。地方衛生研究所および感染研で抗原解析と遺伝子解析を行った結果、分離株の 71% は前年度のワクチン株 A/ニューカレドニア/20/99 に類似していた。しかし、赤血球凝集抑制 (HI) 試験でワクチン株から 4 倍以上の抗原性の違いを示す変異株も増えており、これら変異株の赤血球凝集素 (HA) 蛋白には 140E という特徴的なアミノ酸置換が見られた。変異株群の代表

株としては A/ソロモン諸島/3/2006 や A/福島/141/2006 が挙げられ、これらに対するフェレット抗血清は、最近の流行株の 70% に対して HI 試験で同程度の抗体価を示した。このことから、A/H1N1 の流行はワクチン株 A/ニューカレドニア/20/99 から A/ソロモン諸島/3/2006 類似株へと変化しており、次シーズンは後者類似株による流行が主流となることが予想された。

一方、HA 遺伝子解析においても、最近の流行株はワクチン株から離れた A/ソロモン諸島/3/2006 で代表される一群に集約しており、遺伝的にもワクチン株から離れてきていることが示された。

米国、ロシア、南アフリカなど A/H1N1 亜型の流行が大きかった地域も報告されている。これらの地域においてもわが国と同様の傾向が見られ、A/ニューカレドニア/20/99 様ウイルスによる流行が依然主流ではあるが、A/ソロモン諸島/3/2006 様ウイルスによる流行が大きな割合を占めつつある。

A/ニューカレドニア/20/99 株ワクチン接種後のヒト血清抗体の A/ソロモン諸島/3/2006 や A/福島/141/2006 株に対する交叉反応性は高くない。また、感染症流行予測調査事業による抗体保有状況調査において、A/ニューカレドニア/20/99 に対して感染防御の指標となる HI 価 1 : 40 以上の抗体保有率は年々高くなってはきているが、5-24 歳代が 50-75% と高いのに対して、35 歳以上の年齢層においては 20-35% 程度にとどまっている。更にこれらの抗体は、A/ソロモン諸島/3/2006 や A/福島/141/2006 株に対する交叉反応性は高くない。これらの成績から、今後流行の主流が A/ソロモン諸島/3/2006 様ウイルスになった場合は、現在よりワクチンによる防御効果が下がる可能性が示唆された。

以上の経緯から、WHO では 2007/08 シーズンのワクチン株として、A/ソロモン諸島/3/2006 類似株を推奨した。一方、国内ワクチン製造所において A/ソロモン諸島/3/2006 株について増殖性、継代後の抗原性の安定性などについて検討した結果、ワクチン製造株として採用可能であることが

示された。

以上のことから、2007/08 シーズンの A/H1N1 亜型ウイルスワクチン株として、A/ソロモン諸島/3/2006 を選定した。

2. A/広島/52/2005 (H3N2)

今シーズンの A/H3N2 亜型の流行ウイルスは、WHO のワクチン推奨株 A/ウイスコンシン/67/2005 およびわが国のワクチン株 A/広島/52/2005 株類似株は 4 割程度であった。しかし、流行株の主流を占めた抗原変異株の変異の程度は小さく、変異株の 70% は HI 試験で 4 倍以内の抗原性の変化に留まっていた。一方、HI 試験で 8 倍以上の違いを示す変異株も増加する傾向が認められ、3 月以降はそれらが主流を占める可能性が予想された。諸外国においてもわが国と同様の傾向が見られ、流行株の抗原性はワクチン株から離れてきていることが示された。さらに、HA 遺伝子解析からは、流行株の大半はワクチン株とは異なる 142G アミノ酸置換を含む A/ネパール/921/2006 株で代表される群と、A/ブリスベン/9/2006 や A/仙台 H/F131/2006 など代表される 2 群に分かれ、ワクチン株 A/ウイスコンシン/67/2005 や A/広島/52/2005 が入る群とは明らかに異なる遺伝子群を形成していた。

流行の主流を占めた変異株の中から次期ワクチン候補株として期待された A/広島/33/2006 および A/仙台 H/F131/2006 株を孵化鶏卵で再分離し、それらで作製したフェレット抗血清で最近の流行株との反応性を検討した。その結果、これらの抗血清の反応性は低く、わが国のワクチン株 A/広島/52/2005 フェレット抗血清の反応性を超えるほど優れたものではなかった。従って、候補株 A/広島/33/2006 および A/仙台 H/F131/2006 株はワクチン株としての有用性は低いと判断された。一方、海外においても同様に、孵化鶏卵分離株 A/ネパール/921/2006 に対して作製したフェレット抗血清はワクチン株 A/ウイスコンシン/67/2005 株に対する抗血清に比べて、最近の流行株に対して僅かに広い反応性を示すものの、次期ワクチン

候補株として選択できるほど優れたものではなかった。さらに、マイクロ中和法を用いて成人および老人血清に対する A/ネパール/921/2006 および最近の参照株 A/カナダ/1212/2006 との反応性を調べたところ、ワクチン株 A/ウイスコンシン/67/2005 と比べて大きな違いは見られなかった。このことから、A/ウイスコンシン/67/2005 または A/広島/52/2005 ワクチンによって誘導される抗体は最近の流行株をまだカバーできる可能性が示された。

国内外における最近の H3N2 亜型流行株の抗原解析、遺伝子解析において上記のように変異株が増加し、次シーズンはそれらが主流になることは国内外のワクチン株選定関係者の一致した見解である。しかし、例年に比べて流行が 1 ヶ月以上遅れたことと流行規模が小さかったことから、世界的にウイルス分離株数が少なく、最近の流行株群から次期ワクチン候補株となる適当な孵化鶏卵分離株がワクチン株選定の期限までに世界中のどこからも見つからなかった。また、その後も有力な候補株の検索と抗原解析が続けられたが、現行のワクチン株 A/ウイスコンシン/67/2005 またはわが国のワクチン株 A/広島/52/2005 を超える有力株は見つからなかった。

以上のことから、WHO は H3N2 流行株の多くはワクチン株から抗原的にも遺伝的にも変化してきていることを認識しているが、適当なワクチン候補株が見つからない現状、および現在のワクチン株でもある程度の交叉防御が期待できることから、2007/08 シーズン用に A/ウイスコンシン/67/2005 類似株（製造株としては A/ウイスコンシン/67/2005 および A/広島/52/2005）が推奨された。

わが国のワクチン株 A/広島/52/2005 に対する抗体保有調査の結果、最も抗体保有率の高い年齢層である 5-29 歳代でも抗体保有率は 30-50% 程度にとどまっており、それ以上の年齢層では 20-30% と低い。さらに、過去 6 年のワクチン株に対する抗体保有状況を比べると、A/広島/52/2005 ワクチン株による抗体保有率が最も低

く、当該ワクチン株によるさらなる免疫の必要性が示唆された。

以上のことから、2007/08 シーズンの A/H3N2 亜型ワクチン株として A/広島/52/2005 を選定した。

3. B/マレーシア/2506/2004

国内における 2006/07 シーズンでは、B 型インフルエンザの流行は相対的に大きく、H3N2 亜型と同程度であった。B 型ウイルスは 1980 年代後半から抗原的にも遺伝系統的にも異なる 2 つのグループに分岐している。今シーズンの流行株は、昨シーズンと同様に大半は B/ビクトリア/2/87 で代表されるビクトリア系統に属し、別系統の山形系統に属する株は全国で 10 株程度であった。

国内分離株の抗原解析の結果、ビクトリア系統株のほぼ 100% はワクチン株 B/マレーシア/2506/2004 と抗原的に類似していた。また、3 月以降においてもその傾向は変わらなかった。

遺伝子解析から、分離株の大半は B/マレーシア/2506/2004 に代表される特徴的なアミノ酸置換 48E, 80R, 129N をもつ群に集積され、前シーズンから大きな変化は見られなかった。

一方、諸外国でも 2 月末までは、ビクトリア系統株が主流を占め、山形系統株との分離比率は 82:12 であった。海外で分離されたビクトリア系統株は抗原的、遺伝的にもわが国の分離株と同様でワクチン株 B/マレーシア/2506/2004 と類似していた。一方、山形系統分離株は、過去のワクチン株 B/上海/361/2002 から変化した B/フロリダ/4/2006 類似株であった。このことから、諸外国では山形系統株も増えてきているものの、世界的には B/マレーシア/2506/2004 類似株が未だに主流であることから、WHO は 2007/08 シーズンのワクチン株として B/マレーシア/2506/2004 類似株を推薦した。

抗体保有状況調査をビクトリア系統の B/マレーシア/2506/2004 株で実施したところ、抗体保有率が最も高い 30-34 歳代でも 35% 程度にとどまっており、全年齢層にわたって抗体保有率は低かった。さらに、ビクトリア系統ワクチン株に対する

抗体保有率は、過去6シーズンとも継続して低く、本系統株による免疫補強が強く推奨された。一方、わが国においては今シーズンは山形系統株による流行はなかったが、2シーズン前のワクチン株 B/上海/361/2002 に対する抗体保有率は、0-4 歳代および50歳以上の高齢者では15-30%と低かったが、それ以外の5-49歳代では40-80%と高い抗体保有状況であり、もし次シーズンに山形系統株による流行があったとしても、ある程度対応可能と推測された。

以上のことから、2007/08 シーズンの B 型ワクチンにはビクトリア系統である B/マレーシア/2506/2004 を選定した。

2) H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス株の性状解析とプロトタイプワクチン株の選択の検討

WHO 世界インフルエンザ計画および世界インフルエンザサーベイランスネットワークの一員として、世界各地で分離された H5N1 型ウイルスの遺伝子解析 (HA, NA を含む遺伝子塩基配列) およびフェレット感染血清を用いた抗原解析の結果、H5N1 型ウイルスは、1996 年以来現時点までに、大きく3つの Clade, 細かくは19の Subclade に分化していることが明らかとなった。2003 年以来、ヒトに感染しているグループは4つあり、このいずれもが新型インフルエンザの候補となりうることから、これらすべてに対するプロトタイプワクチン製造株の開発が必要であると結論された。

添付資料 : **Antigenic and genetic characteristics of H5N1 viruses and candidate H5N1 vaccine viruses developed for potential use as human vaccines**

3) H5N1 型プロトタイプワクチンの臨床試験成績の比較検討

WHO に協力して、現在までに世界各国、各ワクチンメーカーで開発され、臨床試験が実施されている H5N1 型インフルエンザワクチンについて、それらの臨床試験成績を比較検討した。

その結果、アジュバント添加不活化ワクチンは、

ヒトにおいて強い血清抗体の免疫誘導能を示し、さらに異なる Clade および Subclade に対する交差免疫も誘導することがわかった。

しかし、現在の H5N1 型弱毒生ワクチンは、鳥型ウイルスに対するレセプターの少ないヒトの上気道での増殖効率は悪く、季節性インフルエンザワクチンに比べて免疫誘導能は明らかに低かった。したがって、新型インフルエンザに対するワクチンとしては、弱毒化生ワクチンよりは、アジュバント添加不活化経鼻投与ワクチンの期待が大きいと判断された。

参考資料 WHO | **Tables on the Clinical trials of pandemic influenza prototype vaccines**

http://www.who.int/vaccine_research/diseases/influenza/flu_trials_tables/en/print.html

E. 結論

我が国及び世界各国におけるインフルエンザウイルスの流行動向、抗原解析、遺伝子解析および住民の抗体保有状況ならびに昨年度のワクチン接種者における抗体応答を解析し、平成19年度(2007-08 シーズン)の我が国における流行予測を行い、これに基づいて、平成19年度向けのインフルエンザワクチンの選択を検討した。

また、WHO に協力して、世界各地で流行している H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスの抗原解析、遺伝子解析を行い、H5N1 ワクチン製造用のプロトタイプワクチン株を選定した。

さらに、現在までに世界各地で開発され、臨床試験が実施されている H5N1 型ワクチンについて、その臨床試験成績を比較検討した。その結果、アジュバント添加不活化ワクチンは、ヒトにおいて強い血清抗体の免疫誘導能を示し、さらに異なる Clade および Subclade に対する交差免疫も誘導することがわかった。しかし、現在の H5N1 型弱毒生ワクチンは、鳥型ウイルスに対するレセプターの少ないヒトの上気道での増殖効率は悪く、季節性インフルエンザワクチンに比べて免疫誘導能は明らかに低かった。したがって、新型インフルエンザに対するワクチンとしては、弱毒化生ワク

チンよりは、アジュバント添加不活化経鼻投与ワクチンの期待が大きいと判断された。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. Shirato, K., Nishimura, H., Saijo, M., Okamoto, M., Noda, M., Tashiro, M., Taguchi, F. :Diagnosis of human respiratory syncytial virus infection using reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification J. Virol. Methods 139; 78-84, 2007
2. Okada, M., Okuno, Y., Hashimoto, S., Kita, Y., Kanamaru, N., Nishida, Y., Tsunai, Y., Inoue, R., Nakatani, H., Fukamizu, R., Namie, N., Yamada, J., Takao, K., Asai, A., Asaki, R., Kase, T., Takemoto, Y., Yoshida, S., Peiris, J.S.M., Chen, P.-J., Yamamoto, N., Nomura, N., Ishida, I., Morikawa, S., Tashiro, M., Sakatani, M. Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models Vaccine 25; 3038-3040, 2007
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; 3554-3560, 2007
4. Kato, A., Kiyotani, K., Kubota, T., Yoshida T., Tashiro, M., Nagai, Y. :Importance of anti-Interferon capacity of the Sendai virus C protein for pathogenicity in mice J. Virol. 81; 3264-3271, 2007
5. Imai, M., Ninomiya, A., Minekawa, H., Nomoto, 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 method J. Virol. Methods 141; 173-180, 2007

厚生労働科学研究費補助金
(医療技術実用化総合研究事業：基礎研究成果の臨床応用推進研究)
平成 19 年度分担研究報告書

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの臨床応用に関する研究
「野生水禽、家禽およびヒトから分離されたインフルエンザウイルス株の
抗原性、遺伝子および生物性状の解析」

(分担) 喜田 宏 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

研究要旨： ヒトと動物のインフルエンザワクチンの開発に有用なウイルス株を収集するために、動物インフルエンザのグローバルサーベイランスを行っている。2007年の9月から11月にかけて、北海道およびモンゴルで採集した野生水禽の糞便1,692検体から36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H1、H3、H4、H5、H7、H8、H10、H11、H12の9つの亜型に、NA亜型はN1、N2、H3、N4、N5、N6、N7、N8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ず、すべて弱毒タイプのウイルスであった。今回分離された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。これにより、16のHA亜型と9のNA亜型の組み合わせ144通りのうち、136通りがワクチンおよび診断に利用できるウイルス株として系統保存された。これらのうち、H5N1亜型のワクチン候補株としてA/duck/Hokkaido/Vac-1/05 (H5N1)とA/duck/Hokkaido/Vac-3/07 (H5N1)を作出した。これらのウイルスの全遺伝子配列を決定し、遺伝子情報をデータベースに登録した。また、モノクローナル抗体を用いた抗原性解析、発育鶏卵および培養細胞での増殖性、マウスにおける免疫原性の成績より、これら2株がH5インフルエンザに対するワクチン株として有用であることを確認した。

A. 研究目的

アジアから家禽と野鳥に感染が拡大した高病原性鳥インフルエンザウイルスが、新型インフルエンザウイルスとして出現し、パンデミックを起こすことが世界中で危惧されている。パンデミックに備えたワクチンを準備するためには、ワクチン株と流行株の抗原性が多少異なる場合でも、高い免疫効果を示すことが必要である。本研究で開発・実用化を目指す粘膜ワクチンは、全身の中和抗体のみならず、呼吸器粘膜局所の免疫を賦活してインフルエンザウイルスの感染をその侵入門戸で防御することを目的とする。

安全で有効な粘膜ワクチンを開発するために、野生水禽、家禽、およびヒトから分離されたインフルエンザウイルス株の遺伝子、抗原性、発育鶏卵や培養細胞での増殖性、マウスにおける免疫原性を評価し、ワクチン製造用候補株としてライブラリー化する。

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を分離した。分離されたウイルスのHAおよびNAの亜型を同定し、それら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。野外から分離できないHAとNAの組み合わせのウイルスは、系統保存されたウイルスを基に実験室内で遺伝子再集合体を作成し、ウイルスライブラリーに追加した。

H5N1亜型のウイルスも遺伝子再集合体として実験室内で作出し、系統保存に追加した。これらのウイルスの全遺伝子配列を決定し、遺伝子情報をデータベースに登録した。またモノクローナル抗体を用いた抗原性解析、発育鶏卵および培養細胞での増殖性を評価した。さらに、本ウイルスからワクチンを試製し、マウスにおける免疫原性を評価した。

C. 研究結果

野生水禽の糞便1,692検体から36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H1、H3、H4、H5、H7、H8、H10、H11、H12の9つの亜型に、NA亜型はN1、N2、H3、N4、N5、N6、N7、N8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。16のHA亜型と9のNA亜型の組み合わせ144通りのうち、136通りがワクチンおよび診断に利用できるウイルス株として系統保存された (<http://virusdb.czc.hokudai.ac.jp/vdbportal/view/index.jsp>)。H5N1亜型のワクチン候補ウイルスとして A/duck/Hokkaido/Vac-1/05 (H5N1) と A/duck/Hokkaido/Vac-3/07 (H5N1) を遺伝子再集合体として準備した。これらのウイルスの全遺伝子配列を決定し、遺伝子情報をデータベースに登録した。またモノクローナル抗体を用いた抗原性解析、発育鶏卵および培養細胞での増殖性、マウスにおける免疫原性の成績より、これら2株がH5亜型のインフルエンザウイルスワクチン株として有用であることを確認した。

D. 考察

作出した2つのH5N1ウイルスは、ヒトと動物のインフルエンザワクチン開発に有用なウイルスである。今後継続したウイルス収集を行い、抗原性や免疫原性に関する成績をもとにすべての亜型のワクチン候補株を選抜、保存していく必要がある。

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、ヒトと動物のインフルエンザワクチン開発に有用なウイルス株を得ることができる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Fujii, K., Kakumoto, C., Kobayashi, M., Saito, S., Kariya, T., Watanabe, Y., Sakoda, Y., Kida, H., and Suzuki, M. (2007). Serological evidence of influenza A virus infection in Kuril harbor seals (*Phoca vitulina stejnegeri*) of Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci* 69, 259-263.
- (2) Guo, C. T., Takahashi, N., Yagi, H., Kato, K., Takahashi, T., Yi, S. Q., Chen, Y., Ito, T., Otsuki, K., Kida, H., Kawaoka, Y., Hidari, K. I., Miyamoto, D., Suzuki, T., and Suzuki, Y. (2007). The quail and chicken intestine have sialyl-galactose sugar chains responsible for the binding of influenza A viruses to human type receptor s. *Glycobiology* 17, 713-724.
- (3) Itoh, Y., Ozaki, H., Tsuchiya, H., Okamoto, K., Torii, R., Sakoda, Y., Kawaoka, Y., Ogasawara, K., and Kida, H. (2008). A vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 avian influenza virus strain confers protective immunity against highly pathogenic avian influenza virus infection in cynomolgus macaques. *Vaccine* 26, 562-572.
- (4) Manzoor, R., Sakoda, Y., Sakabe, S., Mochizuki, T., Namba, Y., Tsuda, Y., and Kida, H. (2008). Development of a pen-site test kit for the rapid diagnosis of H7 highly pathogenic avian influenza. *J Vet Med Sci.* in press
- (5) Ozaki, H., and Kida, H. (2007). Extensive accumulation of influenza virus NS1 protein in the nuclei causes effective viral growth in vero cells. *Microbiol Immunol* 51, 577-580.
- (6) Sakabe, S., Sakoda, Y., Haraguchi, Y., Isoda, N., Soda, K., Takakuwa, H., Saijo, K., Sawata, A., Kume, K., Hagiwara, J., Tsuchiya, K., Lin, Z., Sakamoto, R., Imamura, T., Sasaki, T., Kokuai, N., Kawaoka, Y., and Kida, H. (2008). A vaccine prepared from a non-pathogenic H7N7 virus isolated from natural reservoir conferred protective immunity against the challenge with lethal dose of highly pathogenic avian influenza virus in chickens. *Vaccine.* in press
- (7) Soda, K., Sakoda, Y., Isoda, N., Kaji

- hara, M., Haraguchi, Y., Shibuya, H., Yoshida, H., Sasaki, T., Sakamoto, R., Saijo, K., Hagiwara, J., and Kida, H. (2008). Development of vaccine strains of H5 and H7 influenza viruses. *Jpn J Vet Res* 55, 93-98
- (8) Takeda, S., Ozaki, H., Hattori, S., Ichii, A., Kida, H., and Mukasa, K. (2007). Detection of influenza virus hemagglutinin with randomly immobilized anti-hemagglutinin antibody on a carbon nanotube sensor. *J Nanosci Nanotechnol* 7, 752-756.
- (9) Tsuda, Y., Sakoda, Y., Sakabe, S., Mochizuki, T., Namba, Y., and Kida, H. (2007). Development of an immunochromatographic kit for rapid diagnosis of H5 avian influenza virus infection. *Microbiol Immunol* 51, 903-907.
- ## 2. 学会発表
- (1) Isoda N, Soda K, Sakabe S, Kishida N, Sakoda Y, Kida H: Effect of inactivated avian influenza vaccine prepared from an apathogenic H5N1 reassortant virus generated between H5N2 and H7N1 isolates from migratory ducks in Asia on protection of chickens against challenge with highly pathogenic avian influenza virus strains. Options for the control of influenza VI, June 17-23, 2007, Toronto, Canada.
- (2) Kida H, Sakoda Y, Isoda N, Soda K, Kishida N: Library of influenza virus strains and genes for vaccine and diagnostic use as the preparedness for pandemics and Highly pathogenic avian influenza. Options for the control of influenza VI, June 17-23, 2007, Toronto, Canada.
- (3) Igarashi M, Ito K, Kida H, Takada A: Genetically destined potentials for N-linked glycosylation associated with antigenic changes of influenza virus hemagglutinin. Options for the control of influenza VI, June 17-23, 2007, Toronto, Canada.
- (4) Soda K, Sakoda Y, Kishida N, Isoda N, Minari K, Kida H: Does H9N2 avian influenza virus acquire high pathogenicity for chicken? Options for the control of influenza VI, June 17-23, 2007, Toronto, Canada.
- (5) Sakoda Y, Isoda N, Soda K, Kishida N, Takada A, Sodnomdarjar R and Kida H: "Characterization of H5 avian influenza virus isolates in Asia", Toronto, Canada, Options for the control of influenza VI, June 17-23, 2007, Toronto, Canada.
- (6) 「H9N2インフルエンザウイルスはニワトリに対する病原性を獲得するか？」曾田公輔、岸田典子、磯田典和、三成健二、迫田義博、喜田宏 第143回日本獣医学会学術集会 (2007年、つくば)
- (7) 「動物インフルエンザのグローバルサーベイランスと全ての亜型ウイルスライブラリーの構築」梶原将大、迫田義博、伊藤壽啓、高田礼人、伊藤公人、岸田典子、五十嵐学、磯田典和、曾田公輔、喜田宏 第55回日本ウイルス学会学術集会 (2007年、札幌)
- (8) 「インフルエンザウイルスの非構造蛋白NS1の抗原性解析」三成健二、迫田義博、竹山夏実、土屋耕太郎、林志峰、喜田宏 第55回日本ウイルス学会学術集会 (2007年、札幌)
- (9) 「インフルエンザウイルス株および遺伝子ライブラリーの公開」吉田裕美、迫田義博、磯田典和、曾田公輔、高田礼人、喜田宏 第55回日本ウイルス学会学術集会 (2007年、札幌)
- (10) 「インフルエンザウイルスの鶏胚に対する病原性を決定する因子の同定」磯田典和、津田祥美、迫田義博、喜田宏 第55回日本ウイルス学会学術集会 (2007年、札幌)
- ## H. 知的財産の出願、登録状況
- 予定なし。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
喜田 宏	新型インフルエンザの発生 の危機をいかに防ぐか	北海道公衆衛生学雑誌	20	15-23	2007
迫田 義博 関 令二 喜田 宏	各種消毒薬の鳥インフル エンザウイルスに対する 効果試験	家畜衛生学雑誌	32	67-70	2007
磯田 典和 喜田 宏	鳥インフルエンザに対 するワクチンの開発	月刊 PHARMSTAGE	7	84-87	2007
喜田 宏	鳥とヒトのインフル エンザワクチン株ライ ブラリー	ブレインテク ノニュース	123	21-25	2007
喜田 宏	特集 進歩する感染症 対策の現状－日本と世 界 インフルエンザの 過去, 現在, 未来	臨床と微生物	34	395-401	2007
Hasegawa H*, Ichi nohe T, Tamura S, Kurata T	Development of a mucosal vaccine for influenza viruses: preparation for a potential influenza pand emic.	Expert Review of Vaccines	6(2)	193-201	2007
Ichinohe T, Nagat a N, Strong P, Ta mura SI, Takahash i H, Ninomiya A, I mai M, Odagiri T, Tashiro M, Sawa H, Chiba J, Kurat a T, Sata T, <u>Hase gawa H*</u> .	Prophylactic effects of c hitin microparticles (CM P) on highly pathogenic H5N1 influenza	J Med Virol.	79(6)	811-819	2007
Ichinohe T, Kawag uchi A, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Od agiri T, Tashiro M , Chiba J, Sata T Kurata T and <u>Has egawa H*</u>	Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C ₁₂ U, a To ll-like receptor agonist, p rotects mice against hom ologous and heterologous virus challenge.	Microbes and I nfection	9(11)	1333-40	2007
Ishak Mde O, Mar tins RN, Machado PR, de Souza LL, Machado LF, Aze vedo VN, Katano H, Sata T, <u>Hasega wa H</u> , Vallinoto A C, Ishak R.	High Diversity of HHV- 8 Molecular Subtypes in the Amazon Region of Brazil: Evidence of an Ancient Human Infection	J Med Virol.	79(10)	1537-44.	2007