

Therapy (2009)

19. WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group; Brown, I. H., Capua, I., Cattoli, G., Chen, H., Cox, N., Davis, T., Donis, R. O., Fouchier, R. A. M., Garten, R., Guan, Y., Kawaoka, Y., Mackenzie, J., McCauley, J., Mumford, E., Olsen, C., Perdue, M., Russell, C. A., Smith, C., Smith, D., Smith, G. J. D., Shu, Y., Tashiro, M., Vijaykrishna, D., Webster, R. Continuing progress towards a unified nomenclature for the highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses: divergence of clade 2.2 viruses. *J. Influenza. Resp. Viral Infect.* (2009, in press)
20. Hishinuma-Igarashi, I., Mizuta, K., Saito, Y., Ohuchi, Y., Noda, M., Akihama, M., Sato, H., Tsukagoshi, H., Okabe, N., Tashiro, M., Kimura, H. Phylogenetic analysis of human bocavirus (HBoV) detected from children with acute respiratory infection in Japan. *J. Infection.* (2009, in press)

喜田 宏 (研究分担者)

1. 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 receptors. *Glycobiology* 17, 713-724.
2. 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.
3. 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
4. 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.
5. 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., Kokumai, 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
6. Soda, K., Sakoda, Y., Isoda, N., Kajihara, 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
7. Takeda, S., Ozaki, H., Hattori, S., Ishii, 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.
8. 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.

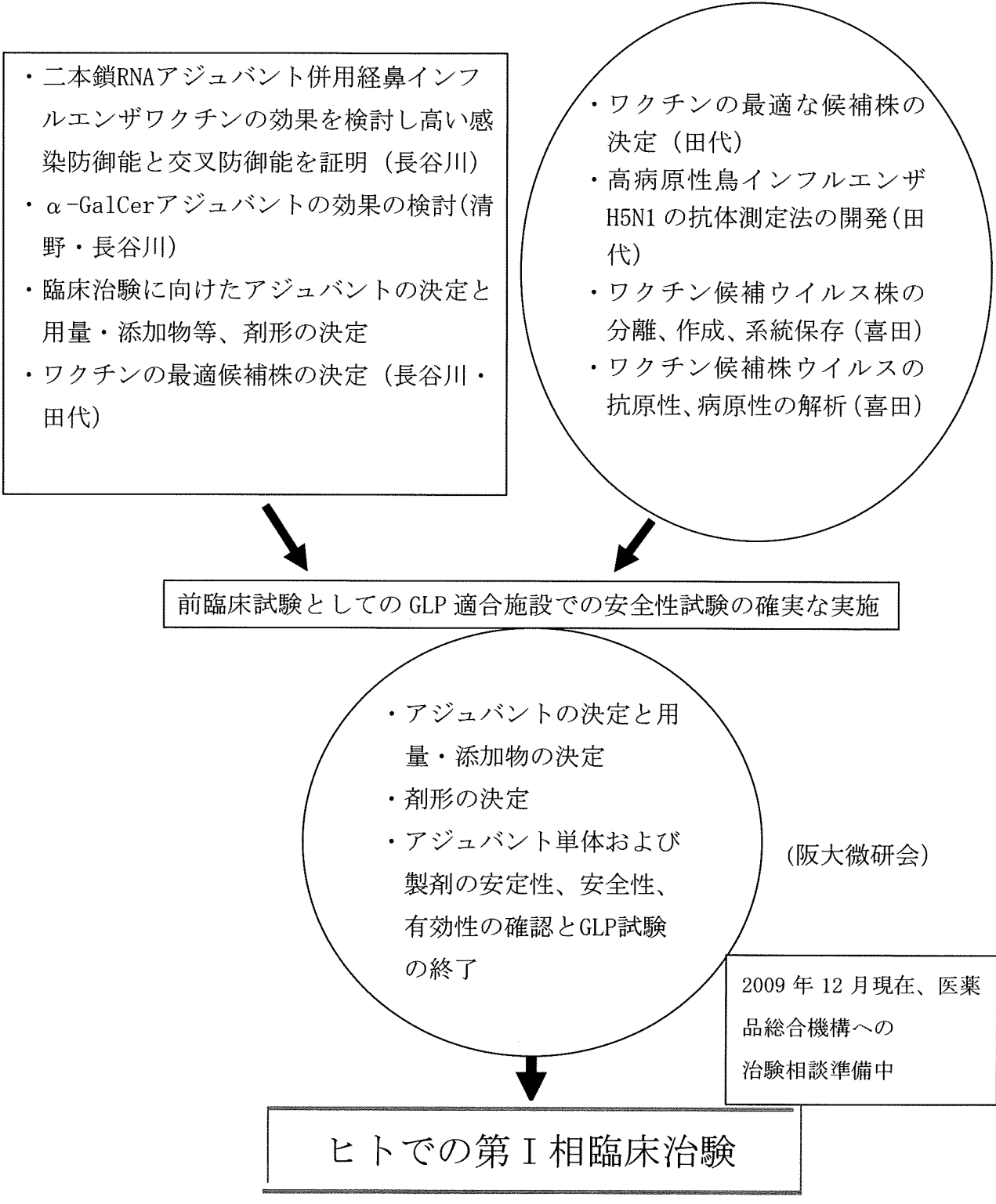
9. Isoda, N., Sakoda, Y., Kishida, N., Soda, K., Sakabe, S., Sakamoto, R., Imamura, T., Sakaguchi, M., Sasaki, T., Kokumai, N., Ohgitani, T., Saijo, K., Sawata, A., Hagiwara, J., Lin, Z., and Kida, H. (2008). Potency of an inactivated avian influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 reassortant virus generated between isolates from migratory ducks in Asia. *Arch Virol* 153, 1685-1692.
10. 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.
11. Kishida, N., Sakoda, Y., Shiromoto, M., Bai, G. R., Isoda, N., Takada, A., Laver, G., and Kida, H. (2008). H2N5 influenza virus isolates from terns in Australia: genetic reassortants between those of the Eurasian and American lineages. *Virus Genes* 37, 16-21.
12. Manzoor, R., Sakoda, Y., Mweene, A., Tsuda, Y., Kishida, N., Bai, G. R., Kameyama, K., Isoda, N., Soda, K., Naito, M., and Kida, H. (2008). Phylogenetic analysis of the M genes of influenza viruses isolated from free-flying water birds from their Northern Territory to Hokkaido, Japan. *Virus Genes* 37, 144-152.
13. Manzoor, R., Sakoda, Y., Nomura, N., Tsuda, Y., Ozaki, H., Okamoto, M., and Kida, H. (2008). PB2 protein of a highly pathogenic avian influenza virus strain A/chicken/ Yamaguchi/7/2004 (H5N1) determines its replication potential in pigs. *J Virol* (in press).
14. 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* 70, 557-562.
15. Okamoto, M., Sakoda, Y., Kishida, N., Isoda, N., and Kida, H. (2008). Antigenic structure of the hemagglutinin of H9N2 influenza viruses. *Arch Virol* (in press).
16. 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., Kokumai, 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* 26, 2127-2134.
17. Sawai, T., Itoh, Y., Ozaki, H., Isoda, N., Okamoto, K., Kashima, Y., Kawaoka, Y., Takeuchi, Y., Kida, H., and Ogasawara, K. (2008). Induction of cytotoxic T-lymphocyte and antibody responses against highly pathogenic avian influenza virus infection in mice by inoculation of a pathogenic H5N1 influenza virus particles inactivated with formalin. *Immunology* 124, 155-165.
18. Soda, K., Ozaki, H., Sakoda, Y., Isoda, N., Haraguchi, Y., Sakabe, S., Kuboki, N., Kishida, N., Takada, A., and Kida, H. (2008). Antigenic and genetic analysis of H5 influenza viruses isolated from water birds for the purpose of vaccine use. *Arch Virol* 153, 2041-2048.
19. Soda, K., Sakoda, Y., Isoda, N., Kajihara, 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.
20. Kida, H. (2008). Ecology of influenza viruses in nature, birds, and humans. *Global Environmental Research* 12, 9-14.

清野研一郎 (研究分担者)

1. Kamijuku H, Nagata Y, Jiang X, Ichinohe T, Tashiro T, Mori K, Taniguchi M, Hase K, Ohno H, Shimaoka T, Yonehara S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H*, Seino KI. Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of alpha-galactosylceramide, which can induce cross-protection against influenza viruses. *Mucosal Immunol.* 2008 May;1(3):208-18. Epub 2008 Mar 5.

Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等

平成 19 年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
 課題名：「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」として
 経鼻インフルエンザワクチンのヒトでの第 I 相臨床治験を目標にスタート



○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

北海道大学大学院医学研究科病理学第二講座

国立予防衛生研究所感染病理部

米国ロックフェラー大学医学ウイルス学部門

アイルランド、ユニバーシティー・カレッジ・ダブリン医学微生物学教室

国立感染症研究所感染病理部

国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

長嶋和郎

松田道行

倉田毅

William W. Hall

田村慎一

・主な研究課題

- 1) アダプター分子 CRK 結合タンパクの同定と機能解析
- 2) HTLV-1 感染機構の解明
- 3) 成人 T 細胞白血病 (ATL) モデル動物の開発
- 4) インフルエンザウイルス感染時の自然免疫機構の解明
- 5) 経鼻インフルエンザワクチン新規アジュバントの開発
- 6) 経鼻インフルエンザワクチンの臨床応用研究

・これまでの研究実績

1. *Ainai A, Ichinohe T, Tamura S, Kurata T, Sata T, Tashiro M and Hasegawa H Zymosan enhances the mucosal adjuvant activity of Poly(I:C) in a nasal influenza vaccine J Med Virol. In press*
2. *Ichinohe T, Ainai A, Nakamura T, Akiyama Y, Maeyama J, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Tamura S, Chiba J, Kurata T, Sata T, and Hasegawa H Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia J Med Virol. 82:128-137, 2010.*
3. *Takahashi H, Ohtaki N, Maeda-Sato M, Tanaka M, Tanaka K, Sawa H, Ishikawa T, Takamizawa A, Takasaki T, Hasegawa H, Sata T, Hall WW, Kurata T, Kojima A. Effects of the number of amino acid residues in the signal segment upstream or downstream of the NS2B-3 cleavage site on production and secretion of prM/M-E virus-like particles of West Nile virus. Microbes Infect 2009 Aug 6. [Epub ahead of print]*

4. Tobiume M, Sato Y, Katano H, Nakajima N, Tanaka K, Noguchi A, Inoue S, Hasegawa H, Iwasa Y, Tanaka J, Hayashi H, Yoshida S, Kurane I, Sata T. Rabies virus dissemination in neural tissues of autopsy cases due to rabies imported into Japan from the Philippines: immunohistochemistry. *Pathol Int.* 2009 Aug;59(8):555-66.
5. Kawaguchi A, Orba Y, Kimura T, Iha H, Ogata M, Tsuji T, Ainai A, Sata T, Okamoto T, Hall W.W, Sawa H, Hasegawa H *Inhibition of the SDF-1 α -CXCR4 axis by the CXCR4 antagonist AMD3100 suppresses the migration of cultured cells from ATL patients and murine lymphoblastoid cells from HTLV-I Tax transgenic mice. *Blood* 2009 Oct 1;114(14):2961-8. Epub 2009 Aug 5.
6. Yamazaki J, Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Masumi A, Ami Y, Hasegawa H, Hall W. W, Tsujimoto H, Hamaguchi I, Yamaguchi K Identification of Cancer Stem Cells in a Tax-transgenic (Tax-Tg) Mouse Model of Adult T- Cell Leukemia / lymphoma (ATL). *Blood* 2009 Sep 24;114(13):2709-20. Epub 2009 Jul 7
7. ***Ichinohe T, Ainai A, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H PolyI:polyC12U adjuvant-combined intranasal vaccine protects mice against highly pathogenic H5N1 influenza virus variants Vaccine2009 Oct 23;27(45):6276-9.***
8. Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Iizuka I, Shiota T, Sakai K, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates. *J Gen Virol* 2009 May 27. [Epub ahead of print]
9. Hayasaka D, Nagata N, Fujii Y, Hasegawa H, Sata T, Suzuki R, Gould A E, Takashima I, Koike A Mortality following peripheral infection with Tick-borne encephalitis virus results from a combination of central nervous system pathology, systemic inflammatory and stress response *Virology* May 23. [Epub ahead of print]
10. Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogata M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S. Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. *J Med Virol.* 2009 Jun;81(6):1102-8.
11. Kataoka M, Yamamoto A, Ochiai M, Harashima A, Nagata N, Hasegawa H, Kurata T, Horiuchi Y Comparison of acellular pertussis-based combination vaccines by Japanese control tests for toxicities and laboratory models for local reaction. *Vaccine* 2009 27,1881-1888
12. Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Ami Y, Fukushi S, Taguchi F, Tsunetsugu-Yokota Y. Neutralizing antibody against severe acute respiratory syndrome (SARS)-coronavirus spike is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. *Microbiol Immunol.* 2009 Feb;53(2):75-82.
13. ***Takahashi Y, Hasegawa H, Hara Y, Ato M, Ninomiya A, Takagi H, Odagiri T, Sata T, Tashiro M, Kobayashi K. Protective immunity afforded by H5N1 (NIBRG-14)-inactivated vaccine requires both antibodies against hemagglutinin and neuraminidase in mice. J Infect Dis. 2009 Jun 1;199(11):1629-37.***
14. ***Hasegawa H, Ichinohe T, Ainai A, Tamura S, Kurata T. Development of an inactivated mucosal vaccine for H5N1 influenza virus. Ther Clin Risk Manag. 2009 Feb;5(1):125-32.***
15. Takahashi H, Kitagawa Y, Maeda-Satoh M, Hasegawa H, Sawa H, Sata T. Monoclonal Antibody and siRNAs for Topoisomerase I Suppress Telomerase Activity. *Hybridoma (Larchmt).* 2009 Jan 8. [Epub ahead of print]
16. Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Iizuka I, Sakai

- K, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Diagnosis and assessment of monkeypox virus (MPXV) infection by quantitative PCR assay: differentiation of Congo Basin and West African MPXV strains. *Jpn J Infect Dis.* 2008 Mar;61(2):140-2.
17. **Ichinohe T, Iwasaki A, Hasegawa H. Innate sensors of influenza virus: clues to developing better intranasal vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2008 Nov;7(9):1435-45.**
 18. **Kamijuku H, Nagata Y, Jiang X, Ichinohe T, Tashiro T, Mori K, Taniguchi M, Hase K, Ohno H, Shimaoka T, Yonehara S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H*, Seino KI. Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of α -galactosylceramide, which can induce cross-protection against influenza viruses *Mucosal Immunol.* 2008 May;1(3):208-18. Epub 2008 Mar 5.**
 19. Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T. Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus leads to lethal pulmonary edema and diffuse alveolar damage in adult but not young mice. *Am J Pathol.* 2008 Jun;172(6):1625-37.
 20. 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.
 21. **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.**
 22. 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.
 23. **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]**
 24. **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**
 25. **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.***
 26. Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Yokoyama M, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Morikawa S, Sata T. Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome (SARS) in F344 rats infected with SARS coronavirus. *J Virol.* 2007 Feb;81(4):1848-57. Epub 2006 Dec 6.
 27. Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Mizutani T, Morikawa S, Tashiro M, Suzuki T, Taguchi F, Takemori T, Miyamura T, Tsunetsugu-Yokota Y. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. *Adv Exp Med Biol.* 2006;581:593-6.
 28. Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Asahi-Ozaki Y, Sato Y, Harashima A, Morikawa S, Saijo M, Itamura S,

- Saito T, Odagiri T, Tashiro M, Ami Y, Sata T. Pathological and virological analyses of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infections in experimental animals. *Adv Exp Med Biol.* 2006;581:515-8.
29. Asahi-Ozaki Y, Itamura S, Ichinohe T, Strong P, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Moriyama M, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H, Intranasal administration of adjuvant-combined recombinant influenza virus HA vaccine protects mice from the lethal H5N1 virus infection. *Microbes and Infection* 2006 Oct;8(12-13):2706-14. 2006 Aug 28; [Epub ahead of print]
30. Maeda M, Sawa H, Tobiume M, Tokunaga K, Hasegawa H, Ichinohe T, Sata T, Moriyama M, Hall WW, Kurata T, Takahashi H. Tristetraprolin inhibits HIV-1 production by binding to genomic RNA. *Microbes and Infection.* 2006 Sep;8(11):2647-56. 2006 Aug 8; [Epub ahead of print]
31. Iwata N., Sato Y., Higuchi Y., Nohtomi K., Nagata N., Hasegawa H, Tobiume M., Nakamura Y., Hagiwara K., Furuoka H., Horiuchi M., Yamakawa Y., Sata T. Distribution of PrPSc in Cattle with Bovine Spongiform Encephalopathy Slaughtered at Abattoirs in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2006 Apr;59(2):100-7.
32. Ishii K., Hasegawa H, Nagata N., Mizutani T., Morikawa S., Tashiro M., Suzuki T., Taguchi F., Takemori T., Takatsugu-Yokota Y., Miyamura T. Induction of Protective Immunity against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection using Highly Attenuated Recombinant Vaccinia Virus Dis. *Virology* 2006 Aug;20(8):1329-31. 2006 May 5; [Epub ahead of print].
33. Saijo M., Ami Y., Suzaki Y., Nagata N., Iwata N., Hasegawa H, Ogata M., Fukushi S., Mizutani T., Sata T, Kurata T., Kurane I, Morikawa S. Monkeypox Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, that lacks expression of B5R membrane protein protects monkeys from monkeypox *J. Virol* 2006 Jun;80(11):5179-88.
34. Ichinohe T, Ito S, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Moriyama M, Chiba J, Kurata T, Sata T, and Hasegawa H* Protection against influenza virus infection by intranasal vaccine with Surfclam Powder as a mucosal adjuvant. *J Med Virol*, 2006 78:954-963.
35. Takahashi H, Maeda M, Sawa H, Hasegawa H, Moriyama M, Sata T, Hall WW, Kurata T. Dicer and positive charge of proteins decrease the stability of RNA containing the AU-rich element of GM-CSF. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006 Feb 17;340(3):807-14.
36. Hasegawa H, Sawa H, Lewis M, Orba Y, Sheehy N, Yamamoto Y, Ichinohe T, Tsunetsugu-Yokota Y, Katano H, Takahashi H, Matsuda J, Sata T, Kurata T, Nagashima K, Hall WW. Development of Thymus-Derived T-cell Leukemia/Lymphoma in Mice Transgenic for the Tax gene of Human T-Lymphotropic Virus Type-I (HTLV-I). *Nature Medicine* 2006 Apr;12(4):466-472.
37. Morikawa S, Sakiyama T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda M, Kurane I, Maeno G, Kimura J, Hirama C, Yoshida T, Asahi-Ozaki Y, Sata T, Kurata T, and Kojima A. An Attenuated LC16m8 Smallpox Vaccine: Analysis of Full-Genome Sequence and Induction of Immune Protection. *Journal of Virology.* 2005 79:11873-11891
38. Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Hasegawa H, Nagata N, Iwata N, Kurane I. Inhibitory effect of mizoribine and ribavirin on the replication of severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus. *Antiviral Res.* 2005 Jun;66(2-3):159-63. Epub 2005 Feb 19.
39. Ichinohe T, Watanabe I, Ito S, Fujii H, Moriyama M, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, and Hasegawa H*, Synthetic double-stranded RNA [poly (I:C)] combined with mucosal vaccine

- protects against influenza virus infection. *Journal of Virology*, 2005 Mar;79(5):2910-9.
40. Hasegawa H, Ichinohe T, Strong P, Watanabe I, Ito S, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T. Protection against influenza virus infection by intranasal administration of HA vaccine with chitin microparticles as an adjuvant. *Journal of Medical Virology*, 2005 Jan; 75:130-136.
 41. Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, Tano Y, Harashima A, Suzaki Y, Sato Y, Hasegawa H, Sata T, Miyamura T, Shimizu H. Differential localization of neurons susceptible to enterovirus 71 and poliovirus type 1 in the central nervous system of cynomolgus monkeys after intravenous inoculation. *J Gen Virol*. 2004 Oct;85(Pt 10):2981-9.
 42. Hasegawa H, Katano H, Tanno M, Masuo S, Ae T, Sato Y, Takahashi H, Iwasaki T, Kurata T, Sata T. BCL-6-positive Human Herpesvirus 8-associated Solid Lymphoma Arising from Liver and Spleen as Multiple Nodular Lesions. *Leuk Lymphoma*. 2004 Oct;45(10):2169-72.
 43. Ueno T, Tokunaga K, Sawa H, Maeda M, Chiba J, Kojima A, Hasegawa H, Shoya Y, Sata T, Kurata T, Takahashi H. Nucleolin and the Packaging Signal, ?? Promote the Budding of Human Immunodeficiency Virus Type-1 (HIV-1). *Microbiol Immunol*. 2004;48(2):111-8.
 44. Takahashi H, Sawa H, Hasegawa H, Nagashima K, Sata T, Kurata T. Topoisomerase I dissociates human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase from genomic RNAs. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Jan 23;313(4):1073-8.
 45. Watanabe I, Ross TM, Tamura S, Ichinohe T, Ito S, Takahashi H, SawaH, Chiba J, Kurata T, SataT, HasegawaH* Protection against influenza virus infection by intranasal administration of C3d-fused hemagglutinin. *Vaccine* 2003 Nov 7;21(31):4532-8.
 46. Inoue S, Sato Y, Hasegawa H, Noguchi A, Yamada A, Kurata T, Iwasaki T. Cross-reactive antigenicity of nucleoproteins of lyssaviruses recognized by a monospecific antirabies virus nucleoprotein antiserum on paraffin sections of formalin-fixed tissues. *Pathol Int*. 2003 Aug;53(8):525-33.
 47. Shoya Y, Tokunaga K, Sawa H, Maeda M, Ueno T, Yoshikawa T, Hasegawa H, Sata T, Kurata T, Hall WW, Cullen BR, Takahashi H. Human topoisomerase I promotes HIV-1 proviral DNA synthesis: implications for the species specificity and cellular tropism of HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jul 8;100(14):8442-7. Epub 2003 Jun 26.
 48. Ito R, Ozaki YA, Yoshikawa T, Hasegawa H, Sato Y, Suzuki Y, Inoue R, Morishima T, Kondo N, Sata T, Kurata T, Tamura S. Roles of anti-hemagglutinin IgA and IgG antibodies in different sites of the respiratory tract of vaccinated mice in preventing lethal influenza pneumonia. *Vaccine*. 2003 Jun 2;21(19-20):2362-71.
 49. Dewan MZ, Terashima K, Taruishi M, Hasegawa H, Ito M, Tanaka Y, Mori N, Sata T, Koyanagi Y, Maeda M, Kubuki Y, Okayama A, Fujii M, Yamamoto N. Rapid tumor formation of human T-cell leukemia virus type 1-infected cell lines in novel NOD-SCID/gammac(null) mice: suppression by an inhibitor against NF-kappaB. *J Virol*. 2003 May;77(9):5286-94.
 50. Hasegawa H, Tatsumi M, Ogawa-Goto K, Takahashi H, Iwasaki T, Kurata T, Sata T, Takeuchi T, Sheehy N, Sawa H, Nagashima K and Hall WW.: Processing of the HTLV-II envelope precursor glycoprotein, gp63 by furin is essential for cell fusion activity. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002, 18: 1253-1260.
 51. Takahashi H, Sawa H, Hasegawa H, Sata T, Hall W, Kurata T.: Binding and dissociation of human topoisomerase I with hairpin-loop RNAs: implications for the regulation of HIV-1 replication. *Biochem*

- Biophys Res Commun. 2002, 297:593-599.
52. Takahashi H, Sawa H, Hasegawa H, Sata T, Hall WW, Nagashima K, Kurata T.: Reconstitution of cleavage of human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) RNAs. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 293: 1084-1091.
 53. Takahashi H, Sawa H, Hasegawa H, Shoya Y, Sata T, Hall WW, Nagashima K, Kurata T.: Topoisomerase I and ATP activate cDNA synthesis of human immunodeficiency virus type 1. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 294: 509-517.
 54. Asahi Y, Yoshikawa T, Watanabe I, Iwasaki T, Hasegawa H, Sato Y, Shimada S, Nanno M, Matsuoka Y, Ohwaki M, Iwakura Y, Suzuki Y, Aizawa C, Sata T, Kurata T and Tamura S. Protection against influenza virus infection in poly-Ig receptor-knockout mice immunized intranasally with adjuvant-combined vaccines. *J Immunology* 2002,168: 2930-2938.
 55. Ogawa-Goto K, Irie S, Omori A, Hasegawa H, Sata T, Kurata T, Arao Y.: An endoplasmic reticulum protein, p180, binds to human cytomegalovirus through an interaction with a tegment protein encoded by UL48. *J Virol* 2002, 76, 2350-62.
 56. Hasegawa H*, Kadowaki S, Aizawa H, Takahashi H, Iwasaki T, Tamura S, Kurata T, Sata T.: Persistent influenza virus infection of irradiated mice and its prevention by intranasal vaccination. *Vaccine* 2002, 20: 1050-1057.
 57. Katano K, Ogawa-Goto K, Hasegawa H, Kurata T, Sata T. Human-Herpesvirus-8-Encoded K8 Protein Colocalizedes with the Promyelocytic Leukemia Protein (PML) Bodies and Recruits p53 to the PML bodies. *Virology.* 2001, 286: 446-55.
 58. Okada Y, Sawa H, Tanaka S, Takada A, Suzuki S, Hasegawa H, Umemura T, Fujisawa Ji, Tanaka Y, Hall WW, Nagashima K. Related Articles Transcriptional Activation of JC Virus by Human T-lymphotropic Virus Type I Tax Protein in Human Neuronal Cell Lines. *J Biol Chem.* 2000, 275: 17016-17023.
 59. Hasegawa H*, Kadowaki S, Takahashi H, Iwasaki T, Tamura S, Kurata T. Protection against influenza virus infection by nasal vaccination in advance of sublethal irradiation. *Vaccine.* 2000, 22: 2560-2565.
 60. Iwasaki T, Tamura S, Kumasaka T, Sato Y, Hasegawa H, Asanuma H, Aizawa S, Yanagihara R, Kurata T Exacerbation of influenzavirus pneumonia by intranasal administration of surfactant in a mouse model. *Arch Virol.* 1999, 144: 675-685.
 61. Takahashi H, Takahashi RH, Hasegawa H, Horiuchi M, Shinagawa M, Yokoyama T, Kimura K, Haritani M, Kurata T, Nagashima K, Characterization of antibodies raised against bovine-PrP-peptides. *J Neurovirol.* 1999, 5: 300-307.
 62. Egan JF, O'Leary B, Lewis MJ, Mulcahy F, Sheehy N, Hasegawa H, Fitzpatrick F, O'Connor JJ, O'Riordan J, Hall WW, High rate of human T lymphotropic virus type IIa infection in HIV type 1- infected intravenous drug abusers in Ireland. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1999, 15: 699-705.
 63. Nagashima, T., Mori, M., Kazumata, K., Fujimoto, M., Kuroda, B., Nunomura, M., Shinohara, T., Hasegawa H., Watanabe, Y., Tanaka, S., Nagashima, K. Meningeal large granular lymphocyte lymphoma. *Neuropathology* 1998, 18: 336-342.
 64. Nagashima K, Kobayashi Y, Hasegawa H, Kurata T.: Herpes encephalitis and paraneoplastic limbic encephalitis. *Neuropathology* 1998, 18: 215-221.

65. Takai S, Hasegawa H, Kiyokawa E, Yamada K, Kurata T, Matsuda M.: Chromosomal Mapping of the Gene Encoding DOCK180, a Major-Crk-Binding Protein, to 10q26.13-q26.3 by Fluorescence in Situ Hybridization. GENOMICS 1996, 35: 403-404.
66. Nagashima K, Tanaka S, Ota S, Hasegawa H, Matsuda M. Molecular analysis of phosphorylated tyrosine-binding proteins in the transduction of proliferation and differentiation signals. In “Brain Tumor: Research and Therapy”, M. Nagai (Ed), Springer-Verlag Tokyo, 1996, pp.151-159.
67. Hasegawa H., Kiyokawa E, Tanaka S, Nagashima K, Gotoh N, Shibuya M, Kurata T, Matsuda M: DOCK180, a Major CRK-Binding Protein, Alters Cell Morphology upon Translocation to the Membrane. Mol Cell Biol, 1996, 16: 1770-1776.
68. Matsuda M, Hashimoto Y, Muroya K, Hasegawa H, Kurata T, Tanaka S, Nakamura S, Hattori S. CRK protein binds to two guanine nucleotide-releasing proteins for the Ras family and modulates nerve growth factor-induced activation of Ras in PC12 cells. Mol Cell Biol. 1994, 14: 5495-500.

・平成22年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

※申請している場合は、申請課題名を記載してください。

- 1) 「新型インフルエンザウイルス H1N1 の病原性及び抗原性の解析」研究分担者
- 2) 「インフルエンザワクチンの有効性と安全性の向上のための理論基盤構築」研究分担者
- 3) 「高病原性鳥インフルエンザの主要重症化要因である劇症型 ARDS (FARDS) 等に対する診断・治療法の開発と病態解明に関する国際連携研究」研究分担者
- 4) 「感染症における糖鎖機能の解明と糖鎖創薬の基盤研究」研究分担者

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

研究代表者：長谷川 秀樹・国立感染症研究所
インフルエンザウイルス研究センター

分担研究者：

田代真人・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
真鍋貞夫・財団法人阪大微生物研究会
清野研一郎・聖マリアンナ医科大学

研究の目的と概要

目的：

- ・ 新型インフルエンザにも対応可能な予防効果の高い
鼻粘膜投与型ワクチンの実用化を目的とする。

- (1) 臨床応用可能な安全な粘膜アジュバントの開発
- (2) 新型インフルエンザに対応したワクチン製造用
種ウイルスの選定
- (3) 経鼻粘膜投与型ワクチン製剤の決定と前臨床試験の実施
- (4) 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの
第1相臨床試験の開始を目指す

背景

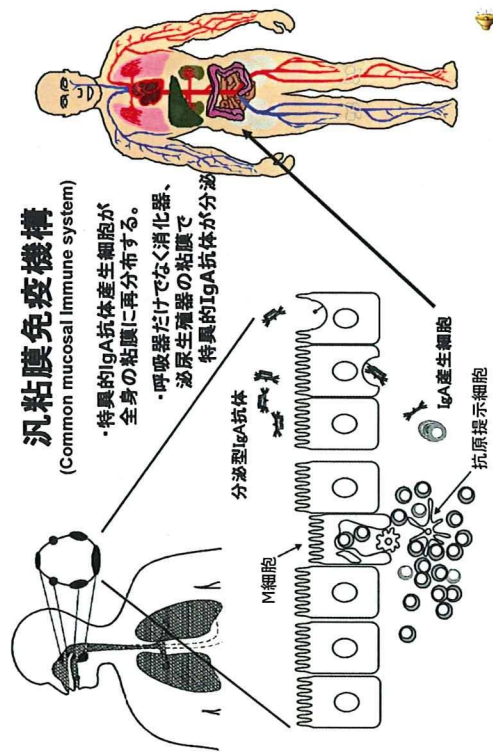
現行の注射型インフルエンザワクチンの問題点

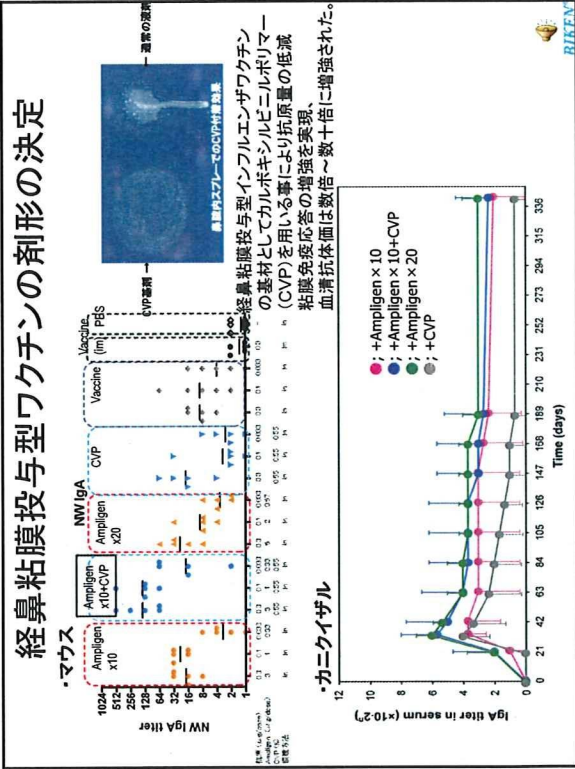
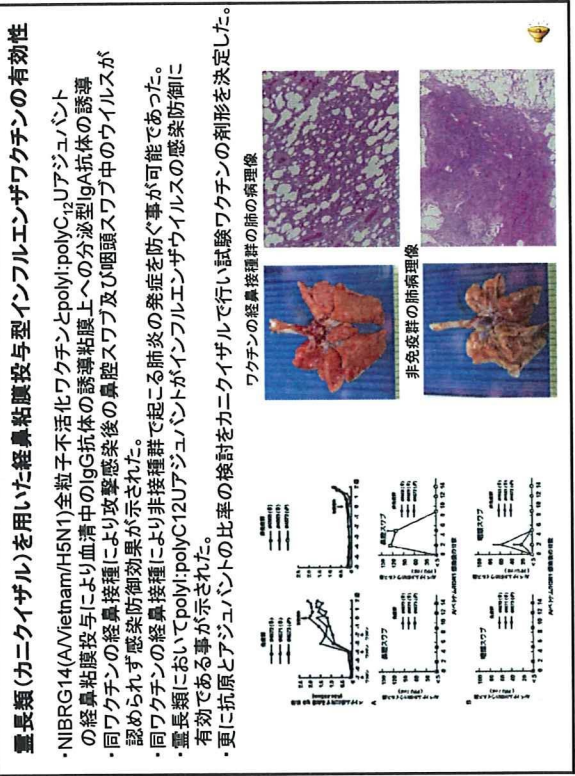
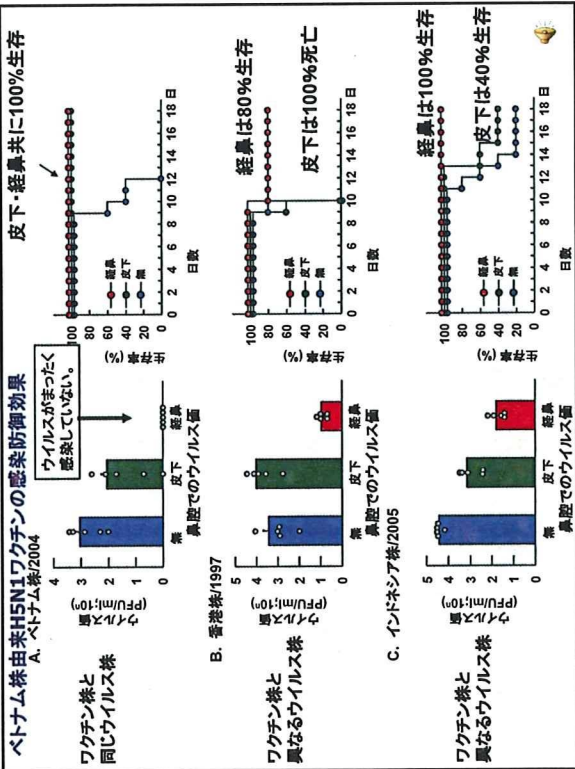
- ・インフルエンザウイルス感染後の発症、重症化は予防できるが感染防御するものではない。
- ・ワクチン株と流行株が一致した時には有効であるが、一致しない場合に効果が低い。
- ・ワクチン株決定から製造までに最低、半年かかる。
- ・新型インフルエンザのパンデミックにおいては流行株を予測する事は不可能である。

本研究で臨床応用を目指す経鼻型ワクチン

- ・ **感染阻止**を目指す。
- ・ 流行株がワクチン株と**一致しない**場合にも有効。
- ・ 予測不能な**新型インフルエンザ**に対応できる。

インフルエンザウイルス感染時の粘膜免疫応答





GLP試験実施項目・内容及び結論(アジュバント単位)

試験番号	試験項目	投与量
P080032	Poly (I:C)ラット単回皮下	0.04-20mg/body
P080033	Poly (I:C)ラット反復経鼻 (5日)	0.125mg/body/day*5
P080034	Poly (I:C)犬単回経鼻	0.5 mg/body
P080036	Ampligenラット単回皮下	0.04-20mg/body
P080037	Ampligenラット反復経鼻 (5日)	0.125mg/body/day*5
P080038	Ampligen犬単回経鼻	0.5 mg/body
P080123	Poly (I:C)犬反復経鼻(5日)	0.5 mg/body/day*5
P080124	Ampligen犬反復経鼻(5日)	0.5 mg/body/day*

実施機関:三愛化学安全科学研究所

結論:ラット反復経鼻投与毒性試験
Ampligenの概略の致死量は雌雄ともに0.125 mg/body/day (5日間投与総量; 0.625 mg/body)を上回ると判断された。
イス反復経鼻投与毒性試験
本試験条件下ではAmpligen投与に起因した毒性変化は認められなかった。
ラット単回皮下投与毒性試験
本試験条件下におけるAmpligenの概略の致死量は雌雄ともに20 mg/bodyを上回ると判断された。
イス単回経鼻投与毒性試験
本試験条件下ではAmpligen投与に起因した毒性変化は認められなかった。

GLP試験実施項目・内容及び結論(ワクチン製剤)

実施済みGLP試験

- 使用製剤: A/Indo/5/2005(H5N1)+Ampligen+CVP
- 使用動物: ラット
- 試験項目: 毒性、中枢神経系、呼吸器系
- 投与回数: 単回、反復(4回)
- 経路: 経鼻
- 投与量: 5および50(μl/body)または10倍~100倍(15μgHA/20kg)に対する倍率
- 所見: 一般状態、体重、剖検、病理とも異状なし、中枢神経に対しては一般症状行動に対して影響なし、呼吸器系に対して投与による影響なし。

実施機関: 三菱化学安全科学研究所

実施済み結果解析中のGLP試験

- 使用製剤: A/Indo/5/2005(H5N1)+Ampligen+CVP
- 使用動物: サル
- 試験項目: 毒性、心血管系
- 投与回数: 単回、反復(4回)
- 経路: 経鼻
- 投与量: 200μl/body または40倍(15μgHA/20kg)に対する倍率

実施機関: 三菱化学安全科学研究所

インフルエンザAウイルス株のライブラリー構築

H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16
N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9							

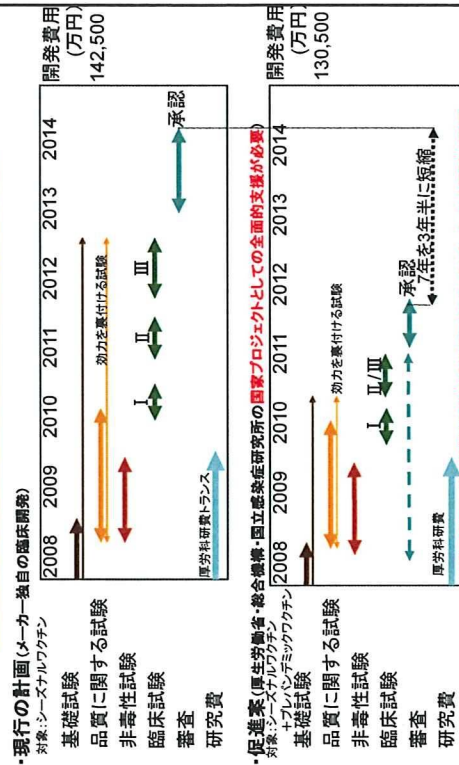
● 自然界から分離(61通り) ● 実験室で作出(83通り)

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ならびにワクチン製造用種ウイルスの選定

進捗状況

1. マウスにおいて、ヒトで使用実績のある合成二本鎖RNAをアジュバントに用いた経鼻インフルエンザワクチンにより、ワクチン株とは異なるウイルス株(H5N1)に対しても、交叉感染防御が可能であった。
2. ヒトに免疫機構の近い霊長類でも二本鎖RNAアジュバント併用経鼻インフルエンザワクチンでの感染防御能が確認された。
3. インフルエンザワクチンの種ウイルスとしてHA H1~H16、NA N1~N9まで144通りのウイルスを分離保存が完了した。
4. アジュバントに用いるpolyI:polyC₁₂UのGLP適合施設での非毒性試験が終了し経鼻接種時の安全性が確認された。
5. カニクイザルを用いた効果試験の結果を元に経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの剤形を決定した。
6. 決定した剤形での前臨床試験としての非毒性試験をGLP適合施設にて実施した。
7. GLP試験結果をもとに第相臨床試験に向け医薬品医療機器総合機構への治験相談の準備中

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発計画と促進策



● 非毒性試験は動物による安全性を裏付ける必要があり最速でも9ヶ月は必要
 ● 臨床試験、審査、承認の過程は厚生労働省、総合機構の全面的支援により短縮可

社会的に注目され実用化が待たれている！
読売新聞朝刊 平成20年1月13日

読売新聞夕刊
平成19年6月30日

**感染予防に
粘膜ワクチン**

呼吸器や消化器の粘膜は、ウイルスや細菌が侵入しやすい場所。粘膜にワクチンを接種することで、感染を予防できる。研究が進められている。

**注射不要の
インフルエンザ**

インフルエンザの予防接種は、注射による痛みや副作用が心配される。鼻や口から接種できるワクチンが開発されている。

**厚労省研究班
即応型粘膜に免疫**

厚生労働省の研究班が、即応型粘膜免疫の効果を評価している。結果は、感染予防に有効と示唆されている。

鼻に「吹き新」

鼻に「吹き新」を接種することで、インフルエンザの感染を予防できる。効果は、従来のワクチンよりも高いとされている。

鼻に「吹き新」

鼻に「吹き新」を接種することで、インフルエンザの感染を予防できる。効果は、従来のワクチンよりも高いとされている。

**注射不要の
インフルエンザ**

インフルエンザの予防接種は、注射による痛みや副作用が心配される。鼻や口から接種できるワクチンが開発されている。

**厚労省研究班
即応型粘膜に免疫**

厚生労働省の研究班が、即応型粘膜免疫の効果を評価している。結果は、感染予防に有効と示唆されている。

鼻に「吹き新」

鼻に「吹き新」を接種することで、インフルエンザの感染を予防できる。効果は、従来のワクチンよりも高いとされている。

鼻に「吹き新」

鼻に「吹き新」を接種することで、インフルエンザの感染を予防できる。効果は、従来のワクチンよりも高いとされている。

**注射不要の
インフルエンザ**

インフルエンザの予防接種は、注射による痛みや副作用が心配される。鼻や口から接種できるワクチンが開発されている。

朝日新聞
3月12日
水曜日

読売新聞
3月12日
水曜日

鼻に「吹き新」

鼻に「吹き新」を接種することで、インフルエンザの感染を予防できる。効果は、従来のワクチンよりも高いとされている。

**注射不要の
インフルエンザ**

インフルエンザの予防接種は、注射による痛みや副作用が心配される。鼻や口から接種できるワクチンが開発されている。

**厚労省研究班
即応型粘膜に免疫**

厚生労働省の研究班が、即応型粘膜免疫の効果を評価している。結果は、感染予防に有効と示唆されている。

