

ミャンマー国内では、インフルエンザの治療に抗インフルエンザ剤は全く使用されていない。しかし、今回のザナミビル耐性株をはじめとして、同シーズン中に採取された H3N2 は全てアマンタジン耐性株であった。このため、ミャンマー国内での薬剤使用には全く関連無く、薬剤耐性株がヒトからヒトへと伝搬感染を起こしているものと考えられる。2007-08 年シーズンにヨーロッパに端を発したオセルタミビル耐性 H1N1 株は、次の 2008-09 年シーズンには、ほぼ全世界で大流行を起こした。特徴としてはすべて NA 遺伝子の 274 位に耐性変異をもつことである。今回の調査では、レバノン、ヨーロッパと同様に H3N2 がメインの流行であったため、H1N1 が 3 件しか採取できなかった。しかし、すべて IC₅₀ 上昇と NA 遺伝子 274 位の変異をもつオセルタミビル耐性株であり、ヨーロッパの流行の影響を強く受けていることが示唆された。一方で、ベトナムとロシア（ウラジオストク）は、オセルタミビル耐性頻度は 7 割程度であり、同じシーズンに日本では 100% オセルタミビル耐性であったことと、差が生じていた。インフルエンザの伝播経路については、H3N2 はアジア起源であると言われているが、H1N1 や B 型については不明である。今後は H274Y やアマンタジンの S31N 変異、あるいは新型インフルエンザ H1N1 をマーカーとして、世界的な伝播経路解析が進むものと考えられる。今回試験に供した国内馬インフルエンザ発生起因ウイルスの N8 亜型 NA の推定アミノ酸配列は、同一であり、その結果得られた IC₅₀ 値も均質な値が得られた。GS4071 に対する *in vitro* における感受性が、N1, N2 亜型 NA のそれより低下しており、亜型によって、NAI に対する感受性が異なっていることが示唆された。これまでも GS4071 の IC₅₀ 値が B 型 > N1 亜型 > N2 亜型であることは、知られている。Zanamivir の IC₅₀ は、N1, N2 亜型におけるそれらよりも高い値を示したと同時に、プロトタイプである Eq/Miami/63 株と 07/08 年分離株との間でも 4 倍以上の違いが認められた。競走馬等の間で、Zanamivir が治療薬として使われているとは考えられないこと、ま

た N1 亜型、N2 亜型で知られている耐性関連変異も認められていないことから、IC₅₀ の上昇は、自然界での進化の過程での変異による偶発的なものであろうと考えられる。07/08 分離 H3N2 亜型馬 II 型インフルエンザウイルスに認められた NAI の IC₅₀ の増加は、*in vitro* における酵素活性に対するものである。ここで認められた感受性の低下が、*in vivo* における薬効の低下につながるか否かは不明である。

[押谷 仁]

インフルエンザ流行期におけるウイルス学的・疫学的な詳細な解析を行って、欠落している必要情報を集積し、新型インフルエンザ出現予測の感度と特異性を検討した。また H5N1 感染症例、予想される新型インフルエンザの症例検討から、症例定義、診断検査方針を検討し、新型インフルエンザ対策計画および対策ガイドラインを改定した。さらに WHO のパンデミックインフルエンザ準備計画の改定を行った。

ウイルスのアマンタジン耐性遺伝子について検討した結果、宿主による進化の違いが明らかになった。

研究 1: 「A 型インフルエンザウイルス (H3N2) 薬剤耐性遺伝子の獲得機序」

2005 年以降、アマンタジン耐性インフルエンザウイルスが流行していたが、2007-2008 インフルエンザシーズンより感受性株が主流となった。ウイルスの全シーケンスを決定したところ、薬剤感受性株は過去の耐性株と遺伝子再構成 (リアソートメント) によって作られた可能性が示唆された。

研究 2: 「オセルタミビル耐性インフルエンザウイルスのサーベイランス」

2008-2009 年インフルエンザシーズンにおいて、仙台市内の 5 小児科医療施設を定点としたインフルエンザウイルスのサーベイランスを行った。仙台市内での流行の主流であった A(H1) 型は、100% タミフル耐性遺伝子型であった。

研究 3: 「RT-PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism assay を利用したオセルタミビル

耐性新型インフルエンザスクリーニング方法の確立」

タミフル耐性新型インフルエンザウイルスのスクリーニングとして NA 遺伝子の 275 番目の histidine から tyrosine の変異 (H275Y) を特異的に検出する reverse transcriptase PCR/restriction fragment length polymorphism (RT-PCR/RFLP) assay を確立した。2009 年に仙台市内で分離された新型インフルエンザウイルス 133 株でスクリーニングを行ったが、すべてタミフル感受性であった。

研究 4: 「仙台市内における薬剤耐性インフルエンザ A (H1N1) ウイルスの発生動向調査」

仙台市内で流行した新型インフルエンザウイルスおよびオセeltaミビル、ナザミビル投与後の患者から分離されたウイルスより両薬剤耐性ウイルスの検出を試みたが、NA 遺伝子の同定および薬剤耐性試験において確認できず、耐性株の流行は確認できなかった。

研究 5: 「医療従事者コホートにおける新型インフルエンザ感染に関する研究」

新型インフルエンザに対する不顕性感染を調査するため、医療従事者を対象としたコホート調査をおこなった。不顕性感染の割合は、ウイルス分離で 14.3%、HI 試験で 20.0%、中和試験では 50.0%であった。今後の感染症対策を考える上で医療従事者の不顕性感染は非常に重要な要素であると考えられる。

[長谷川秀樹]

新型インフルエンザワクチンには強い交叉防御効果が望まれ、経鼻ワクチンが期待される。安全・有効な天然物由来粘膜アジュバントを探索し、4 種理のキノコ菌糸体抽出物の有効性が確認された。マウスにおいて、A/Vietnam/1194/2004 由来の全粒子ワクチンは異なる clade の A/Indonesia/6 感染に対し防御効果が示された。*Phellinus linteus* 抽出液をアジュバントとした H5N1 経鼻ワクチンにより変異株による感染を防御した。

Phellinus linteus (PL)-アジュバント経鼻ワク

チンによりワクチン株と同株のベトナム株及び変異株のインドネシア株に対する防御効果を調べた。ベトナム株由来ワクチンをワクチン単独または PL アジュバントと共に経鼻接種し最終免疫の 2 週間後にベトナム株及びインドネシア株を感染させた。血清中の抗体価及び鼻腔洗浄液中の抗体価を測定すると PL アジュバントを用いた場合の方がアジュバント無しと比較し有意に高い血中 IgG 抗体及び鼻腔洗浄液中の IgA 抗体価を示した。高い抗体価に呼応してベトナム株 1000pfu 感染に対して鼻腔洗浄液中のウイルス価は有意に減少した。コントロール群のマウスは 11 日までに死亡したが PL アジュバント併用経鼻ワクチン接種群では多くのマウスが感染 14 日以上生存し臨床症状を示さなかった。ワクチン株とは異なる株による攻撃感染を行ったインドネシア株による感染の場合も同様に PL アジュバント併用経鼻ワクチンはコントロールのアジュバント無しの場合に比較し鼻腔洗浄液中のウイルス価を有意に減少させ、感染後 14 日以上生存した。

キノコ抽出アジュバントのサイトカイン誘導の MyD88 の関与

粗精製のキノコ熱性抽出物にはプロテオグリカンやヘミセルラーゼ、ベータグルカン等が含まれており CD14/TLR4 や dectin-1 を介して自然免疫を活性化することが知られている。MyD88 は Toll/IL-1R ファミリーのアダプター分子として知られている。そこでキノコ熱性抽出アジュバントによるサイトカイン誘導能を野生型マウスと MyD88 欠損マウスで調べた。野生株マウスおよび MyD88 欠損マウスの骨髄由来樹状細胞に lipopolysaccharide, Zymosan, 又はキノコ熱性抽出アジュバントを添加し 24 時間後の TNF- α の産生能を調べた。Zymosan, *Phellinus linteus*, *Macrolepiota gracilentia*, *Grifola frondosa* 又は *Lentinula edode* 抽出液を添加した時に TNF- α の産生は MyD88 欠損マウスの樹状細胞で部分的ではあるが有意に減少した。一方 LPS を添加した樹状細胞においては野生株と比較し MyD88 欠損マウスでは劇的に TNF- α 産生が減少した。全ての

キノコ熱性抽出アジュバントはLPSやzymosan同様にTNF- α やIL-6を誘導したがIL-12やp70は誘導しなかった。

これらの結果からキノコ抽出物アジュバントによる炎症性サイトカインの誘導は分子メカニズムとして部分的にMyD88依存的である事がしめされた。

経鼻ワクチンのヒトでの有効性

成人ボランティア5名にA/Uruguay/716/07 (H3N2)の三倍濃縮スプリットワクチンを3週間間隔で計5回経鼻接種(45 μ g HA/500 μ l接種)した。ワクチン接種開始より継時的に血清と鼻腔洗浄液を回収し、中和抗体価とHI抗体価の測定を行った。接種回数に応じて中和抗体価およびHI抗体価が上昇することが示された。我々は、経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの接種において、鼻腔洗浄液又は血清において同等の有効性基準を満たすことが好ましいと考える。そこで、まず年齢制限を満たす被験者4名の血清HI抗体価をEMEAの有効性判断基準に当てはめたところ、5回目のワクチン接種後にHI抗体価幾何平均値の条件を満たす(GMT ratio=2.83)ことが示された。また、この有効性判断基準を中和抗体価に当てはめた場合、4回目のワクチン接種後に三つの条件を満たすことが明らかになった。更に、鼻腔洗浄液の評価を行った。その結果、鼻腔洗浄液の総タンパク量を1 mg/mlにした時に、生理的条件下にあるIgA抗体量(約2.21 mg/ml)の1/10量が含まれることが明らかになった。これに従い、得られた鼻腔洗浄液サンプルの総タンパク量を一律1 mg/mlに調製した時の鼻腔洗浄液中の中和抗体価とHI抗体価を測定した。鼻腔洗浄液の中和抗体価は、血清と比較してワクチン接種に伴い速やかに上昇することが示された。血清同様に、この中和抗体価を測定したところ有効性判断基準の三つの項目を満たすことが明らかになった。血清と同様にHI抗体価は中和抗体価の値より2~4倍低い値で相関することが明らかとなった。致死率の高い新型インフルエンザになりうる可能性のある高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)

の感染予防を目指し、天然物由来物質による自然免疫の誘導を応用したアジュバント併用経鼻ワクチンによる感染防御の研究を行った。キノコ熱性抽出物であるPLをアジュバントとして用いた経鼻ワクチンの接種により鼻腔粘膜上に感染防御に有効なHA特異的分泌型IgA抗体、及び血清中のIgG抗体が誘導され交叉防御能が確認された。またPLアジュバントの効果のメカニズムについてアダプター分子であるMyD88が部分的に関与している事が明らかとなった。

経鼻ワクチンのヒトでの有効性を調べる研究において、成人ボランティア5名に三倍濃縮スプリットワクチン(A/H3N2)を計5回、3週間隔で経鼻接種(45 μ g HA/500 μ l接種)し血清および鼻腔洗浄液のワクチン原株に対する中和抗体価とHI抗体価を測定した。経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの有効性を評価する基準は現在存在しないが、少なくとも鼻腔洗浄液又は血清の抗体価の評価に現行の皮下接種型ワクチンの有効性判断基準が参考になる。得られた結果を評価基準に当てはめると、血清HI抗体価の幾何平均値のワクチン接種前後の比が2.5倍より大きいこと、の1項目を満たした。実際の有効性判断には18~60歳の健常被験者が最低でも50名必要とされるため、現在国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認を得て、50人規模での試験研究を既に開始し解析中である。また、中和抗体価とHI抗体価の相関性は血清と鼻腔洗浄液で同じであることから、血清に対する判断基準をもとに、鼻腔洗浄液に関してHI抗体価あるいは中和抗体価を測定することで有効性判断基準の作成が可能であることが考えられる。

[高橋宜聖]

インフルエンザワクチンの効果予測に関する分子免疫学的研究

2009年新型インフルエンザウイルス(H1N1pdm)の大流行に伴い、スプリットワクチンの単回接種が実施された。その結果、H5N1プレパンデミックワクチンの場合と異なり、血清学的にナイーブな健常人においてH1N1pdmに対する中和抗体が効率

的に誘導されることが確認され、何らかの交差免疫記憶の可能性が示唆されている。本研究では、ヒト免疫記憶応答を再構築したヒト化マウスを使用し、H1N1pdm に対する交差免疫応答を再現できるかどうか確認した。A/Narita/1/2009 株に対する血清 HI 抗体価陰性のドナー9名から、末梢血リンパ球を調製しヒト化マウスを作製した。これらマウスに不活化 A/Narita/1/2009 株を接種したところ、ドナー9名のうち、6名由来のヒト化マウスにおいて抗体価の増加が認められ、A/Narita/1/2009 株に対する交差免疫応答の存在が確認された。今後、このヒト化マウスを用いることにより、交差免疫記憶応答に必要なリンパ球サブセットやその抗原認識部位を明らかにすることが可能となる。

(1) 不活化ワクチンに対するドナー由来液性免疫応答の測定

季節性ワクチン接種前のドナー由来末梢血単核球を NOD/SCID/Jak3^{-/-}マウスに移植した。不活化 New Caledonia ワクチンをこのマウスに接種後、脾臓における HA に特異的な抗体産生細胞の数を測定した。末梢血単核球を移植したマウスでは、HA 特異的な IgG 抗体産生細胞が検出された。さらに、IgG サブタイプを調べると、IgG1 と IgG3 から構成されることが判明した。

(2) H1N1pdm 不活化粒子に対する交差記憶応答の測定

9名の HI 抗体陰性のドナーから末梢血リンパ球を調製し NOD/SCID/Jak3^{-/-}マウスに移植した。不活化 Narita 株をこのマウスに接種後、血清中に産生されるヒト抗 Narita HA 抗体価を測定した

(図2)。すると、9名中6名のドナーを移植したマウスにおいて抗 HA IgG 抗体価が検出され、これらの末梢血細胞中に交差免疫記憶応答を示すリンパ球が含まれていることが明らかとなった。

(3) ヒト末梢血記憶 B 細胞と T 細胞の分離

血清 HI 抗体価陰性のドナー末梢血単核球から、T 細胞と記憶 B 細胞を分画した (図3)。T 細胞は CD3 をマーカーとして、記憶 B 細胞は、CD27 と CD19 をマーカーとして使用した。

(4) H1N1pdm 不活化粒子に対する交差記憶応答における記憶 B 細胞の関与

T 細胞と記憶 B 細胞、あるいはコントロールとして T 細胞のみを NOD/SCID/Jak3^{-/-}マウスに移植した。不活化 Narita 株をこのマウスに接種後、血清中に産生されるヒト抗 Narita HA 抗体価を測定した (図4)。すると、記憶 B 細胞を移植したマウスにおいて抗 HA 抗体価が検出され、記憶 B 細胞分画に交差免疫記憶応答を示すリンパ球が含まれていることが明らかとなった。本研究において、インフルエンザワクチンに対するヒト液性免疫記憶応答を再構築したヒト化マウスを作製することに成功した。この実験システムは、従来の *in vitro* 法と異なり、*in vivo* 免疫反応を指標とすることが大きな改良点である。そのため、従来法では不可能であった様々な *in vivo* 因子を包含した状態において、インフルエンザワクチンが惹起するヒト抗体産生機構の解析と有効性の評価が可能となる。2009年に発生した H1N1pdm に対し、60歳以下のほとんどの人は血清学的にナイーブである。このようなナイーブな免疫系を賦活して中和抗体を誘導するためには、アジュバントの添加や複数回接種等が必要となることが H5N1 プレパンドミックワクチンの例で報告されている。しかし H1N1pdm ワクチンの場合、スプリットワクチンの単回接種でも、HI 抗体価や中和抗体価の有意な増加が認められることが判明した。最近の複数のグループの研究から、季節性インフルエンザウイルスにより誘導された CD4 陽性記憶 T 細胞が、新型インフルエンザウイルスに交差反応することが明らかにされている。また、新型インフルエンザウイルス罹患患者から HA に結合するモノクローナル抗体を作製したところ、季節性ウイルスの HA に交差反応性を示す抗体が含まれていたことから、季節性インフルエンザウイルスにより誘導された記憶 B 細胞の一部が交差反応する可能性が指摘されている。本研究でヒト化マウスを用いた実験系で検証した結果、少なくとも記憶 B 細胞の一部が新型ウイルスへの交差性に関与する事が確認された。今後、新型インフルエンザワクチン

接種者において産生されたモノクローナル抗体を作製し、その中和活性やHA結合部位を詳細に解析する事により、H1N1pdm ワクチンに特有な交差免疫記憶の原因メカニズムを明らかにする事が必要と考えられる。

[鈴木康夫]

高病原性トリインフルエンザウイルスがヒトへ伝播可能とするレセプター認識変異を簡便に測定する基本技術を開発した。これにより、パンデミック発生を分子レベルで事前に監視できる可能性を得た。生体中のトリおよびヒトインフルエンザウイルスレセプターシアロ糖鎖分子群の定量的測定技術を開発した。

1) イムノクロマトを用いる簡便かつ高感度な鳥およびヒトインフルエンザウイルス (H5N1) レセプター認識特異性監視キットのプロトタイプ技術を構築した。2) 高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) の宿主動物 (ネコ、イヌなど) 肺における *N*-結合型シアロ糖鎖レセプターの詳細な化学構造を明らかにした。3) ポビドン-ヨード (PVP-I) の抗インフルエンザウイルス活性およびその阻害機構を調べ、PVP-I のウイルスヘマグルチニンおよびノイラミニダーゼ機能の抑制、感染性の阻害機構を明らかにした。4) 様々な化学合成シアロ糖鎖につき、抗インフルエンザウイルス活性を調べ、いくつかの新規ウイルスシアリダーゼ活性阻害剤を見出した。

先ず、合成シアロ糖鎖ポリマー (Neu5Ac α 2-3 (6)Gal β 1-4GlcNAc-polyglutamic acid)、抗H5モノクローナル抗体を用いるELISA技術を応用した鳥およびヒトインフルエンザウイルスのレセプターシアロ糖鎖認識 (Neu5Ac α 2-3Gal or 2-6) を簡便かつ迅速に測定する技術を開発した (*Glycobiology*, 2008)。加えて、イムノクロマト技術による鳥およびヒトインフルエンザウイルスのレセプターシアロ糖鎖識別をより簡便かつ迅速に測定するキット「軽量 (約5グラム)、反応時間15分で完了」の試作品を開発した。基質特異性の異なるシアリダーゼを用いて、赤血球を処理し、鳥型レセプターシアロ糖鎖を欠いた

赤血球を人工的に作り、これを用いて、ヒト型レセプターに結合できる変異を遂げたH5N1を識別する方法を開発した。1, 2の方法を駆使して、ブタ由来H1N1ウイルスのEgg adaptation (北米ブタインフルエンザウイルスのレセプター特異性はヒト型であるが、発育鶏卵のしょう尿膜で passage すると鳥型レセプターへの結合性を獲得する)機構を明らかにした (*J. Gen. Virol.*, 2010, *Glycoconjugate J.*, 2009)。

3. インフルエンザウイルスのレセプター *N*-glycan の詳細な化学構造を決定する基本技術を構築した (*Carbohydrate Res.*, 2008)。これにより、ブタの上気道、下気道、肺における *N*-グリカンの解析を行い、ブタの呼吸器には、ヒト型シアロ糖鎖レセプター (Neu5Ac α 2-6Gal β 1-) が鳥型シアロ糖鎖レセプター (Neu5Ac α 2-3Gal β 1-) に比数倍多いことを見出した。これにより、H5N1ウイルスがブタに感染、ブタ間での流行が起こった場合、ブタ体内からヒト型レセプター結合能力を獲得した新型ウイルスが発生する可能性が明らかとなった (*PLoS ONE*, 2011)。さらに、H5N1ウイルスに感受性である動物 (ネコ、イヌ、トラ、ニワトリなどの家禽) におけるレセプターシアロ糖鎖の分布をレクチンを用いて調べた。その結果、ニワトリ個体からヒトへの適応性を獲得した変異H5N1が発生する可能性を見出した (*Asian Pacific J. Allergy & Immunol.*, 2010)

ラオス人民民主主義共和国におけるH5N1分離株にヒト間伝播可能な変異およびNA阻害剤抵抗性株を発見した (*J Gen Virol.*, 2010)。

1918年に発生したスペインインフルエンザの病原性発現にウイルスノイラミニダーゼスパイクの細胞内エンドソーム・リソソームにおける弱酸性安定性が関わることを発見した。この機構は次期パンデミックインフルエンザウイルスの発生監視技術開発に有用である (*PLoS ONE*, 2010)。

日本産の梅から古式法により製造される梅肉エキスに存在する新物質ムメフラールは、多様な抗インフルエンザウイルス活性を持つことを明らかにした。本研究は、インフルエンザの予防と

古来受け継がれてきた民間食素材とが密接に関わることを示すもので興味深い (*Food Chem.*, 2011)。インドネシアプタから分離された H5N1 にヒト型レセプター (Neu5Ac α 2-6Gal) への結合性を獲得した株を見出した (*Emerg. Infect. Dis.*, 2010)。インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼやヘマグルチニンスパイクの機能を阻害する新しい分子を合成し、その活性を見出した。その一つは、シアル酸の誘導体で、C9 *N*-acyl Neu5Ac2en の構造を持つ。これは、これまで臨床に使われている 4-guanizino-Neu5Ac2en (ザナミビル) に匹敵する強力な抗シアリダーゼ活性を持つことを見出した (*International J. Med. Chem.*, 2011)。イムノクロマトを原理とする簡便な、H5N1 ウイルスの鳥→ヒトレセプター結合特異性の変異監視キットのプロトタイプは、32HAU のウイルス濃度で、15 分以内に測定可能である。さらに感度上昇とウイルスクレード間における反応性の格差なくす改良が必要である。このような、キットの試作は世界初であり、さらに実用化に向けて努力すべきである。これまでは、H5N1 の抗原性や遺伝子の変異による監視のみであったが、今後、ヒト喉にあるウイルス受容体結合性やヒト間伝播可能な変異の監視を可能とする本法の開発は、全く新しい、パンデミックの事前対策を可能とするものであり重要且つ期待出来るものである。また、宿主動物細胞におけるシアロ糖鎖受容体の精密構造解析法も本研究で確立されたので、今後、ウイルスの変異と宿主動物の標的組織細胞シアロ糖鎖との関係がより分子レベルで解析が可能となった。本法は、H5N1 のワクチン株の産生に最も好都合な宿主細胞を解析できる可能性を拓くもので、さらなる応用が期待される。また、本研究により、いくつかのインフルエンザウイルス HA および NA の機能阻害剤 (天然および化学合成) が見出された。その中には、現行のザナミビル (リレンザ) やオセルタミビル (タミフル) と同等あるいはそれ以上に強力なウイルスシアリダーゼ活性阻害剤も含まれており、さらなる応用が期待できる。以上、本研究により、今後パンデミック

が危惧される H5N1 ウイルスのヒト型への変異予測が全く新しい糖鎖ウイルス学的視点から可能となり、次世代の抗インフルエンザ薬開発の基盤が達成できたと思われる。

[岡部信彦]

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検討した。

(1) マスク着用によって、咳の際の風圧、風速は 1/10 になり、粒子の飛散量も 8% に減少した。完全とはいえないまでもウイルスの拡散リスクの低減には役立つと考えられる。

(2) 電話相談窓口を試験的に開設したところ、多様な問い合わせがあり、対応者の問題が浮かび上がった。

1. 医療および行政機関を対象とした新型インフルエンザを含む感染症全般に係る電話相談窓口 3 年間の電話相談は総計 1 8 1 6 件であり新型インフルエンザの相談は 212 件であった。新型インフルエンザのニュースが新聞などをにぎわしたところが相談のピークがあり、新型インフルエンザに対する相談が増加した。2010 年以降も新興・再興感染症についても報道に影響を受けていることから報道と相談内容の関連性を解析した。その結果相談の多かった上位 2 位 は全てメディアとの相関性が認められた (平成 22 年度報告書、図 1 参照)。

2. 沖縄県における 2009 年度の新型インフルエンザ疫学調査

2009 年 8 月 25 日現在の沖縄県における新型インフルエンザ実地疫学調査においては、新型インフルエンザの沖縄県内一例目が 6 月 29 日に認められて以降、定点あたりの県内インフルエンザ患者の報告数をみると、第 34 週 (8 月 17 日~23 日) の 46.31 をピークとして流行した。沖縄県における流行は日本本土に先行するものであった。狭い沖縄本島内であっても流行期のずれがあったことは特徴的であり、最初同島中部地区より流行が

急速に立ち上がった。年齢群別患者報告数を見ると10歳代後半に最も多くの患者発生を認めたが（年齢中央値：16歳）、大部分の公立学校夏期休業が7月18日に始まって以降、定点報告における年齢群別割合としては20代以上が50%前後を占めたことは特徴的な状況であった。8月25日現在までに入院加療を要した例は27例報告され、うち57歳の宜野湾市の男性（血液透析中）が8月15日に死亡し、国内初の死亡例として報告された。沖縄本島中南部の主たる医療機関における情報収集では、感染の拡大に伴い経時的に受診患者が増加しているものの、特に週末の受診者数が、多く認められた。大半の患者において比較的軽症な新型インフルエンザの病状から、患者側により余裕がある時間帯における基幹救急医療期間への受診という行動につながっている可能性が示唆された。発熱患者以外の救急患者受け入れのためにも、行政による住民への広報やメディアに対する情報の共有、他の基幹病院以外の医療機関との連携が急務であると考えられた。地域によっては医師会や行政などによるそのような連携も有効に行われていた。2010年1月初旬までの沖縄県宮古島市（2009年12月末の総人口55,190人）における流行の実態把握調査においては、2009年7月中旬までの流行開始以降、同10月22日の時点で、宮古島市においては、10歳代を最多に1,548人（人口の2.8%）のインフルエンザ様疾患患者が報告され、沖縄県内における流行ウイルス株の情報より大半が新型インフルエンザであると考えられた。そのうち入院した患者は5-9歳、0歳代の順に25人（25/1,548=1.6%）であった。脳症や重症肺炎などの重症者は無かった。宮古島市における新型インフルエンザの流行インパクトに関する調査は本稿提出時点で現在進行中であり、同市における正確な罹患率・入院率・重症化率（・死亡率）などのデータが得られる予定である。

D. 考察

本研究の意義と目的は、以下のとおりである。

(1)弱毒型の(H1N1)2009 インフルエンザ大流行では健康被害と社会的影響は軽微だったが、強毒型 H5N1 鳥インフルエンザが新型インフルエンザとして大流行した際には、未曾有の健康被害と社会機能の麻痺・崩壊が予想される。従って、軽微から重篤なものまで幅広いパンデミックを規定する科学的基盤の解明と、それに応じた発生予測、早期検知、リスク評価が必要である。

(2)最悪のシナリオにおけるパンデミック時の健康被害を最小限にとどめ、社会機能の維持を目的として、新型インフルエンザの発生予測、早期検知、リスク評価方法を確立し、事前準備と緊急対策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・提供し、危機管理体制の確立に寄与する。

これに沿って、以下の研究・検討を行った。

1. 様々なシナリオにおける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早期検知監視体制と様々なシナリオにおけるリスク評価方法の確立
3. 新型ウイルス迅速診断キットの開発・改良・実用化
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. 感染病理機構の解明に基づく経鼻投与ワクチン、組織培養ワクチンの開発

これらの成果を活用して、健康危機管理、社会危機管理体制の整備が進み、最悪のシナリオにおける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応用される。また、各分担研究者の研究成果の概要は以下のとおりであり、ほぼ研究目的を達成できたと評価される。鳥で流行中のインフルエンザウイルスの遺伝子、抗原性、生物性状等を比較検討し、新型インフルエンザ出現の可能性、健康被害、社会的影響等のリスク評価を行った。

H5N1 は徐々にブタ型ないしヒト型に変化しており、またブタにおける不顕性感染が確認されたことから、新型インフルエンザへの進展と、ヒトに対する高病原性が維持される可能性があることが判断された。国内外の野鳥から多数のインフルエンザウイルスを分離同定し、起源と由来を同定した。越冬で北から飛来する野鳥が H5N1 を持っていたことから、H5N1 は北極圏に定着したと判断された。鳥ウイルスのブタ型、ヒト型への変身要因として、HA 蛋白レセプター認識部位の変異と RNA ポリメラーゼ変異による低温の増殖性が示された。遺伝子解析から、H5N1 型はヒト型へ、さらに上気道で効率よく増殖するようになってきている。またウイルス継代によりヒト型への変異が生じて蓄積することが示された。インドネシア・中国で鳥型 H5N1 ウイルスがブタに不顕性感染しており、ヒト型への変化が危惧される。H5N1 および H1N1 pdm ウイルスが識別する動物とヒトのレセプター認識変異の簡便測定技術を開発し、パンデミック発生を監視できる可能性を得た。

高病原性鳥インフルエンザウイルス

A/chicken/Yamaguchi/7/2004 (H5N1) 株の豚における増殖に PB2 タンパクが関与することがわかった。トリ（及びヒト）への強毒性は、ヒト型への変異要因とは異なる数カ所の遺伝子部位が規定している。流行中の H5N1 ウイルスでは弱毒化の傾向は無く、H5N1 新型ウイルスには、強毒性が維持される可能性が高い。ブタ由来 H1N1pdm ウイルスのウイルス性状、遺伝子構造、病原性、抗原性、エピトープ、抗ウイルス剤感受性、病態解析、動物実験を行い、病原性、伝播性、薬剤耐性等の分子基盤を解明した。H1N1pdm は 4 種類のブタウイルスの交雑体で、弱毒型であるが、季節性ウイルスよりは若干病原性が強く、多くのトリ型ウイルスの性状を保持し、未だ十分にヒト型には変化していないことを示した。これらに基づき、健康被害と社会的影響に対するリスク評価と流行予測、緊急対応方策を提言した。診断キット、新型ワクチンを開発した。H1N1pdm の国内のブタへの感染を確認し、リスクを評価した。

H5N1 および H1N1 pdm ウイルスのリアルタイム RT-PCR による診断系を開発し、検疫所、地方衛生研究所へ技術移転し、統一された最新版マニュアルを用いた診断検査が可能とした。

オセルタミビル耐性株の全国緊急調査を行った。2007/08 年では A/H1N1 の耐性変異 (H275Y) は 2.6% と低く、08/09 年には 99% となった。H1N1pdm の耐性は 1.2% と低頻度で、拡大傾向はなかった。耐性株はザナミビル感受性でワクチン株と同じ抗原性であった。

マウスでプレパンデミックワクチン (NIBRG-14、Anhui 株) の感染防御機構を解析した。H5N1 ワクチンは H1N1 ワクチンに比べ抗 NA 抗体惹起能が高く、抗 HA 抗体と協調的に感染防御に寄与していた。新型ワクチンには強い交叉免疫を賦与する経鼻ワクチンが望ましい。安全・有効な天然物由来粘膜アジュバントを探索し、2 重鎖 RNA および 4 種類のキノコ菌糸体抽出物の有効性を確認した。マウスとサルにおいて、H5N1 全粒子経鼻アジュバント添加不活化ワクチンは、異なる clade の H5N1 感染に対し交差性の防御効果を示した。

H5N1 に対し十分な事前準備対応が不可欠で、他の亜型の新型インフルエンザにも対応可能と判断された。特に、H5N1 備蓄ワクチンの事前接種 (プライム・ブースト戦略) の有効性が示唆された。

健康危害情報

A(H1N1) pdm ウイルスは弱毒型であり、免疫学的にも季節性 H1N1 ウイルスと交差する免疫学的性状を持つ。従って、H5N1 で予想されるような膨大な健康被害や壊滅的な社会的影響は生じないと判断された。一方、H5N1 強毒型の新型インフルエンザ出現のリスクは減っておらず、これから新型ウイルスが出現した際の影響を考慮すると、最悪の状況に備えた十分な事前準備と緊急対応計画を再検討し、早急に十分な準備をすすめることは必須である。現在の H5N1 型高病原性ウイルスは依然トリ型だが、一旦感染すると致死率 60% を超す重症疾患となる。徐々にヒト型への遺伝子変化が生じており、トリの間での流行が続けば、突

然変異が蓄積し新型ウイルスへの変化が懸念される。その際、現在のトリ型ウイルスと同様に、インフルエンザとは異なる重症全身性疾患（ウイルス全身感染と、サイトカインストームによる多臓器不全）をもたらす可能性があり、未曾有の健康被害が危惧される。健康危機管理、公衆衛生上の事前準備と緊急対応体制の整備と、社会危機管理体制の整備によって、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必須である。

[鳥インフルエンザ]

A 型インフルエンザは、カモなどの渡り鳥のウイルスをその起源とし、水鳥や家禽、ブタ、ウマ、ヒトなどを自然宿主とする人獣共通感染症である。A 型ウイルスには 16 種類の HA 亜型が存在するが、これら全ての亜型ウイルスは本来の宿主である水鳥の間で維持されている。自然界での鳥ウイルスはすべて弱毒型であり、鳥では腸管や呼吸器表層の局所的な不顕性感染にとどまる。

弱毒型鳥インフルエンザウイルスの中でも、H5 または H7 亜型ウイルスがニワトリの間で伝播流行すると、HA 蛋白の開裂部位の変異によって強毒型（高病原性）ウイルスに変化することがある。強毒型ウイルスは、家禽に対して強い感染伝播力を持ち、全身感染を起こしてほぼ 100% の家禽を殺す。これが高病原性鳥インフルエンザという鳥の病気であり、以前は家禽ペストと呼ばれた。「高病原性インフルエンザ」という呼称は、病原性が強い「インフルエンザ」との誤解を生じており、問題である。今回の研究結果から、従来弱毒型に終始すると考えられていた H9 についても、強毒型の出現の可能性が示唆された。さらに、15 年前から東アジアの家禽やブタの間で流行している H9N2 型は、既にレセプター結合特異性はヒト型になっており、ヒトの感染患者も毎年数人が確認されている。症状は全て季節性インフルエンザ程度かより軽症である。しかし、中国南部では、H5N1 型の制圧が進むにつれて、トリにおける弱毒型 H9N2 ウイルスの流行が相対的に増加している。従

って、新型インフルエンザが発生する可能性も以前から指摘されているが、さらにその場合には強毒型である可能性も否定できなくなった。鳥ウイルスが直接にヒトに感染することは稀だが、様々な遺伝子変異によって、直接的またはブタを介してヒト型ウイルスに変化し、数十年に一回の割合で、ヒトの世界で新型インフルエンザとして大流行を繰り返してきた。現在トリの間で流行しているウイルスが、そのまま新型インフルエンザとしてヒトの間で大流行する可能性はない。今回のブタ由来の H1N1 新型インフルエンザを含めて、過去の新型インフルエンザは鳥の弱毒型ウイルスに由来していたので、ヒトにおいても「インフルエンザ」と言う呼吸器に局限した感染症を起こしてきた。毎年流行するヒトの季節性インフルエンザは、このような新型インフルエンザの子孫ウイルスによって起こる呼吸器感染症である。現在、東アジアを中心にトリの間で流行しているウイルスでは、強毒型 H5N1、弱毒型 H9N2 が双壁であり、これらから新型インフルエンザが発生する危険性が高い。それ以外では、2004 にオランダを中心に流行した強毒型 H7 の流行が懸念され、また中国では弱毒型 H6N1 も相対的に優位にある。

一方、現在特に問題となる流行はないが、1957 に新型インフルエンザとして 2~400 万人の死亡者を出したと推定され、その後 1968 年までヒトの世界で流行した弱毒型 H2N2 については、ウイルスが多く研究室に凍結保存され、実験にも使用されている。このウイルス自身は弱毒型であるが、ヒト患者から分離された完全なヒト型ウイルスであり、病原性は H3N2 香港型よりも若干強い。しかも 1968 年以後に生まれたヒトは全く免疫を持たない。従って、実験室などでの感染事故等により感染者が発生すれば、43 歳以下を中心に大流行を起こす可能性がある。今回の新型インフルエンザ (H1N1) 2009 の流行中でも、トリの間で定着しているトリ強毒型 H5N1 の流行はほぼ例年通りであり、偶発的なヒトの患者の発生状況も変わっていない。従って、現時点での新型インフルエンザに対するリスク評価は、数年前とは大きく変わ

っていない。

[ブタインフルエンザ]

ブタは、呼吸器細胞がトリ型とヒト型の両方のレセプターを持ち、また体温がトリとヒトの間にあるため、鳥とヒトの両方のウイルス感染を受けることができる。そこで、これらに起源をもつブタ型ウイルス(トリ型とヒト型の間位置する)を維持している。畜産ブタの寿命は半年程度なので、ヒトとは異なって、免疫圧力による抗原変異ウイルスの選択が起こりにくく、北米では1918年のスペインかぜインフルエンザの子孫ウイルス(H1N1)がブタの中で維持されている。さらに、鳥やブタのウイルスとヒトのウイルスが同時に感染すると、遺伝子分節の交雑が起こるために、ヒトの新型インフルエンザ出現過程で中間宿主の役割を果たしてきた。2009年の新型インフルエンザウイルス(H1N1)pdm は、北米系統のブタインフルエンザウイルス(正確には、1990年代の後半に、古典的ブタ型ウイルスと、ヒト香港型ウイルスとトリ型ウイルスからRNAポリメラーゼ遺伝子が導入された3重交雑体)に、ユーラシア系統のブタウイルスのNAとM遺伝子が交雑した結果、ヒトの間での感染伝播力を獲得したものである。

ウイルス遺伝子の全塩基配列から予想される内部タンパクのアミノ酸残基を、ヒト型ウイルスに共通するアミノ酸、トリ型ウイルスに共通するアミノ酸と比較すると、ヒト型とトリ型のちょうど中間に位置した。PAタンパクの356のアミノ酸置換が唯一の共通する変化であり、未だヒト型にはなっていないことが示された。

ほぼ完全なブタ型ウイルスであり、アミノ酸配列から予想されるHAタンパクのレセプター結合部位の構造からは、ブタ型ウイルスと同じく、トリ型とヒト型の両方のレセプターに結合する能力を持つと判断された。遺伝子はすべて弱毒型ウイルスに由来しており、スペインかぜウイルスや強毒型H5N1ウイルスに認められる強毒性を規定する遺伝子は見つかっていない。一方、全身感染(強毒型)か局所感染(弱毒型)かを規定するHA

タンパクのプロテアーゼによる解裂活性化部位は一つのアルギニン残基しか持たず、全身感染は起こさない。RNAポリメラーゼの至適温度を決めるPB1については、これを規定する627および701番目のアミノ酸はそれぞれトリ型であり、未だヒト型には適応しておらず、ヒトにおけるウイルス増殖や伝播力はまだ十分ではないと判断された。

スペインかぜウイルスとH5N1ウイルスで合成されているPB1-F2タンパクについては、3か所のストップコドンのためにタンパク合成はなく、これが規定する細胞・組織障害性はないと判断された。H5N1ウイルスの強毒性に関与するNAタンパクの軸部位にはアミノ酸欠損はなかった。NSIタンパクについては、スペインかぜウイルスやH5N1ウイルスとは異なって、92番目のアミノ酸は季節性ウイルスと同じであり、C末端のPDZモチーフはコードされていない。従って、これらが規定するアポトーシス誘導、インターフェロン抵抗性、組織障害等の病原性を規定するシグナルは存在しない。一方、動物実験では、季節性インフルエンザに比べて肺炎を起こす傾向が示され、若干病原性が高かった。これは、A(H1N1)pdmウイルスが、肺胞上皮細胞に存在するトリ型レセプターに結合しうることと、小動物の肺の体温が高いために、増殖至適温度に近いことが理由と解釈される。また、感染したヒトからネコ、ブタ、イヌ、フェレット、ニワトリ、シチメンチョウなどにも感染伝播されていることから、これらの動物の間でウイルスが維持されると、さらにヒトへの感染源になったり、H5N1等のトリ型ウイルスとの遺伝子交雑が生じることが危惧される。一方、A(H1N1)pdmウイルスの抗原性は均一で、最近の季節性H1N1ウイルスと全く交差しないが、過去のブタ型ウイルスとはかなり高い交差性を示す。

しかし、遺伝子塩基配列から推定される抗原エピトープについては、ブタ型ウイルスとヒト季節性ウイルスの中間にあり、HAで約30~50%が保存されている。従って、季節性H1N1ウイルスの感染暴露を受けている殆どの成人については、共通抗原エピトープに対する基礎免疫記憶(プライミ

ング)を持つと推定された。70歳以上の高齢者の多くがA(H1N1) pdm ウイルスに対する中和抗体を保有している知見と合わせて考えると、高齢者を含む多くの成人では流行がそれほど広がらない可能性、またワクチンの1回接種で共通免疫の増強(ブースター効果)が期待できることが推定された。従って、2009年のH1N1パンデミックは、ウイルス学的には弱毒型の季節性インフルエンザウイルスに相当するブタウイルス由来の新型ウイルスによるもので、病気は呼吸器感染に留まる「インフルエンザ」である。健康被害も最悪でも、世界全体で200~400万人が死亡したアジアかぜインフルエンザや、100万人程度が死亡した香港かぜインフルエンザ並みの中程度の健康被害であり、健康被害も比較的軽度で、社会的影響も壊滅的なレベルには至らないと予想された。

また、スペインかぜパンデミックでは、第1波は弱毒性であったが、第2波では病原性が增強されて大きな健康被害が出たと言われている。しかし、ウイルス遺伝子が解析されたのは第2波のウイルスのみであり、推定の域を出ない。現在のA(H1N1) pdm ウイルスにスペインかぜウイルスにおける病原性を規定する幾つかの遺伝子変異が同時に起こる可能性は非常に低い。従って、可能性は全く否定はできないが、このウイルスが近い将来、病原性を高める可能性は非常に低いと予想された。一方、今後起こるだろうヒト型への適応につれて、より季節性ウイルスを同じ流行動向と病原性を示すようになる可能性が高い。ほとんどの人が免疫を持たないために新型インフルエンザ(H1N1)2009は世界的流行を起こしたが、伝播効率や健康被害が季節性インフルエンザを越えていない事実は、これらのウイルス学的解析から予想されたことと、よく一致している。

[高病原性H5N1鳥インフルエンザの流行と強毒型パンデミック出現への危惧]

2003年後半に東アジアから始まったH5N1高病原性鳥インフルエンザの流行は、中国、韓国、日本、東南アジア、シベリア、インド、中東、ヨー

ロッパ、アフリカへと拡大を続けている。このウイルスは特に病原性が強く、家禽以外にも多くの野鳥やネコ、トラ、ネズミ、イヌなどの哺乳動物にも致死的な全身感染を起こす。流行拡大につれてウイルス遺伝子に突然変異が次々と生じる結果、同じH5N1亜型でも流行地域ごとに抗原性や生物学的性状が異なる10のクレードに大きく分かかれ、更にその中でもいくつかのサブクレードに分岐して、新型インフルエンザ(H1N1)2009の大流行中にも、これとは独立に世界各地の様々な鳥類の間で流行中である。

トリH5N1ウイルスがヒトに感染することは稀だが、既に500人近くの感染患者が確認されている。その多くは鳥との接触感染で、小児・若年成人が90%を占め、不顕性感染は殆どない。主な伝播経路は飛沫感染だが、経口感染も疑われている。ほとんどの症例は重症肺炎(ARDS)が主徴であるが、さらに下痢、多臓器不全、出血傾向などを呈し、病態は基本的には動物や鳥と同様である。ウイルス感染は呼吸器にとどまらず、血流中に入って脳、心臓、腎臓、脾臓、リンパ節、腸管や、胎盤、胎児にも感染が広がる。ウイルスがヒト型に変化した場合には、更に広範な全身感染が起こることが危惧される。一方、ウイルス感染に対する宿主側の過剰防御応答(サイトカインストーム)により多臓器不全が生じ、致死率は60%を超え、無治療の場合には100%死亡している。H5N1強毒型鳥インフルエンザウイルスのヒトでの感染は、呼吸器の局所感染である「インフルエンザ」とは異なる、非常に重症な全身性疾患であることを銘記すべきである。

さらに、トリ型からヒト型への変化に必要なとする遺伝子変異の部位と、強毒性を規定する遺伝子部位は、別の遺伝子分節または別の遺伝子部位に存在するために、トリ型のH5N1ウイルスがヒト型になった場合に弱毒型になる可能性はない。

従って、H5N1による新型インフルエンザ大流行は、強毒型のパンデミックという最悪のシナリオとなろう。

弱毒型ウイルスで比較的病原性の弱いA(H1N1)

pdm による新型インフルエンザ大流行に対して、H5N1 鳥ウイルス由来の新型インフルエンザが出現すれば、強い病原性のウイルスによる大流行が起これ、過去のパンデミックとは比較にならない甚大な健康被害と社会的影響という最悪のシナリオとなる可能性が高い。この際には、世界で1億人以上、日本でも64~210万人が死亡するとの予測もある。ヒト型への変化に伴ってウイルスが弱毒化するとの予想には根拠は無く、むしろ更に強い全身感染を起こす可能性も危惧され、過去の新型インフルエンザとは比較にならない甚大な健康被害と社会的影響が起こる可能性がある。現時点で、強毒型の新型ウイルスが出現すれば、短期間に集中的な大流行が起これ、膨大な健康被害と二次的な社会機能、経済活動の破綻・崩壊が危惧される。特に、医療サービス、交通・物流、食糧やエネルギーなどのライフライン、治安維持などの社会機能の維持が問題となる。さらに、行政機関、企業、事業体等においても、業務の低下、停止から破綻に至る可能性もある。世界全体で大量倒産やGDPの~10%減など、1929年の世界大恐慌をはるかに上回る経済破綻も予測されている。途上国などにおいて、パンデミックへの準備と緊急対応体制が無い場合には、さらに膨大な健康被害と社会的な影響が出るであろう。

現時点で、H5N1ウイルスは依然トリ型であるが、鳥との接触歴がなく、人から人への感染伝播が推定される集団発生例も多数報告されている。インフルエンザウイルスの遺伝子変異はウイルス複製回数に比例するので、鳥での伝播が拡大継続する限り、ヒト型に変身する危険が増え続ける。

2006年をピークとしてH5N1患者報告数は減少傾向にあるが、2009年には患者発生は前年を越え、消滅するとの一部の予測は全く外れた。インドネシアでの患者発生は年末まで公開されず、この間の患者発生やウイルスの解析結果に対する緊急対応は全くなされなかった。

さらに、鳥インフルエンザ流行地域の多くでは鳥にワクチン接種の導入を行ったため、鳥は不顕性感染となり、病鳥が発見されにくくなって、か

えて新型インフルエンザ出現の危険性が高まったとも考えられる。

一方、エジプトでは多数の患者が報告されたが、その多くは小児であり、しかも小児における致死率は12%と低かった。これに対して成人女性の致死率は高かった。小児に患者が多かったことに対する理由については十分に説得力のある回答はないが、小児が家禽との接触する機会が多いと考えられている。一方、致死率の違いは、医療へのアクセスの違いによるものと推察される。エジプトでは、インフルエンザ様症状を呈した小児に対しては、検査結果を待たずに抗インフルエンザ薬の治療を受けることになっているが、成人特に女性では医療機関を受診することは稀であると報告されている。

エジプトにおける流行ウイルスはクレード2.2系統であり、これまでの同系統のウイルスとは優位の変化は起こっていない。従って、致死率の低下は、ウイルスが弱毒化したものではなく、早期治療による効果であると考えられる。インドネシアでは、治療しなかった場合の致死率が100%であることを考慮すると、早期治療が重要であり、疑い患者が発生した際には、直ちに治療を開始できるような教育、情報提供、受け入れ態勢の整備が必要である。

一方で、東アジアを中心に弱毒型H9N2鳥インフルエンザが拡大傾向にあることが分かり、H5以外の亜型についても新型インフルエンザとなる可能性も指摘される。しかも、H9N2ウイルスは10年以上前から、レセプター結合特性が、ガラクトースと $\alpha(2-6)$ で結合したシアル酸(ヒト型)に変化していることから、新型インフルエンザとなる可能性も比較的高い。しかし、ウイルスは典型的な弱毒型であり、壊滅的な状況にはならないと考えられる。

4月以来、現在流行中の2009年のH1N1パンデミックは、弱毒型の季節性インフルエンザウイルスに相当するブタウイルス由来の新型ウイルスによるもので、病気は「インフルエンザ」である。健康被害も世界全体で200~400万人が死亡した

アジアかぜインフルエンザや、100 万人程度が死亡した香港かぜインフルエンザ並みの中程度の健康被害であると予想される。このような弱毒型鳥ウイルスに由来する新型インフルエンザの場合には、人の病気は「インフルエンザ」であり、健康被害も比較的軽度で、社会的影響も壊滅的なレベルには至らないと予想される。それでも 1918 年のスペインかぜでは、当時の世界人口 18 億人のうち、若年成人を中心に 4 千万から 1 億人が死亡したと推定されている。現在地球人口は 68 億人に増加し、高速大量輸送などで生活環境は大きく変化しているので、同程度の病原性を持つパンデミックでも、その被害はさらに大きくなると予想される。国は、スペインかぜインフルエンザを最悪のシナリオと想定し、国内での死亡を最大 64 万人として、これに対する対策を検討してきた。これに対しては、非常に楽観的な想定であり、十分な準備にはなっていないとの批判も多い。

現在のブタ由来 H1N1 新型インフルエンザの大流行とは独立して、H5N1 強毒型ウイルスは鳥の間で流行を続けており、ヒトへの感染例も昨年の報告数を越えている。既にヒト型化に対応する遺伝子変異をもつウイルスも、少なからず確認されており、徐々にヒト型に近づいていると懸念されている。従って、H5N1 強毒型の新型インフルエンザ出現のリスクは全く減っていないことを強調しておきたい。

[新型インフルエンザ大流行への準備]

新型インフルエンザ対策は、健康問題を超えて、社会全体での危機管理、危機対応の問題である。危機管理上の準備対策としては、最悪のシナリオを想定し、これに対して十分な準備をしておくことが鉄則である。現時点での最悪のシナリオは、強毒型 H5N1 パンデミックである。これに対する事前準備と緊急対応計画を実施しておけば、弱毒性のパンデミックの場合にも、余裕を持って柔軟に対応が可能となる。しかし、今回のブタ由来の弱毒性 H1N1 新型インフルエンザに対しては、当初、政府によって、「最悪」を想定した計画に沿

って硬直化した対応が執られたために、様々な社会的な影響が出て大きな批判を浴びた。しかも、その反動で、季節性インフルエンザ程度との誤った安心感が広がり、新型インフルエンザの本質が見失われた結果、必要な措置が次々と骨抜きとなる一方で、適切な緊急対応が遅れて、貴重な時間が浪費されてしまった。秋口になって本格的に流行が広がり始めてから、ようやくワクチン政策や医療体制の整備など、多くの未解決な問題が浮き彫りにされてきた。新型インフルエンザ大流行には地球全体での対応が必要であり、国連、WHO をはじめ各国は新型インフルエンザを危機管理問題として準備を進めている。我が国でも、平成 17 年末に新型インフルエンザ対策行動計画を定め、平成 21 年 3 月には新型インフルエンザ対策ガイドラインを改定し、省庁連携体制で事前準備と大流行時の緊急対応計画の策定と実施を進めてきた。これらは、強毒型パンデミックを想定していると説明されているが、被害想定は弱毒型のスペインかぜを対象としたものであり、H5N1 パンデミックを想定した十分な準備対応は計画されていない。しかも、弱毒性の比較的軽微なパンデミックに対する対応については、柔軟性・弾力性をもった計画の修正・変更が検討されていなかったために、今回の H1N1 パンデミックに際しては、新たな基本方針などが次々と出されて、実施担当の前線において様々な混乱が生じた。

[強毒型パンデミックに対する事前準備と緊急対応計画]

一応 H5N1 パンデミックを想定した国の計画では、新型インフルエンザ早期検知の監視体制、検疫や早期封じ込め戦略、流行を平坦化して患者の集中的発生を抑え社会機能の維持を図る社会行動規制、新型ワクチン開発とプレパンデミックワクチンの備蓄、パンデミックワクチンの緊急開発・製造・接種、抗ウイルス剤の備蓄と使用方針、医療体制の確保、学校や事業所での緊急対応や業務継続計画、海外在留者への対応措置など、多くの項目について計画が立てられている。一部は実

施されているがまだまだ不十分である。特に、これらの事前準備と緊急対応のほとんどを実施する主体は地方自治体であるが、各自治体における危機感の認識と準備対応には大きな差異があり、国による十分な指導・支援が望まれる。何時、どの亜型で、どの程度の病原性のウイルスかは予想不可能だが、新型インフルエンザ大流行は何時か必ず起こる。ブタ由来の H1N1 パンデミックの現時点においても、H5 亜型の可能性は依然高く、十分な事前準備がなければ健康被害は膨大となり、二次的な社会危機が生じてパニックが起こる可能性は変わっていない。しかし行政だけでは国民全ての健康を確保し、社会機能を維持することは不可能である。国民は新型インフルエンザに対する正しい知識を持ち、起こりうる状況を理解して、冷静かつ適切に対応しうる準備が必要となる。健康被害を最小限にとどめ、社会機能を維持するために、各自治体、企業、事業所、職場、家庭、個人でも、各状況に応じた効果的な対策を準備する必要がある。大流行時には多数の職員の欠勤が予想されるので、職員の確保や優先順位の設定などによる緊急対応体制の維持が必要である。予め事前準備計画を立てて実施しておくこと、また大流行発生時における緊急対応計画を作成して実施可能にしておくことが強く望まれる。

また新型インフルエンザ発生直後には、基本的には患者は指定医療機関への入院勧告がなされ、封じ込めにより流行を遅らせて平坦化する措置が取られる。しかし、流行の拡大後には隔離政策は意味を失い、すべての医療機関が対応することとなる。発熱外来の設置や、電話やメールによる遠隔診療など、非日常的な対応も必要となろう。さらに様々なシナリオに基づいた訓練を繰り返し、必要に応じた改訂を重ねていくことも重要となる。特に、大流行時においては、緊急対応の鍵となる医療サービスの維持、確保が全てを左右する。医療対応能力を超えて急増する患者への対応以外にも、職員の欠勤、医療器材・医薬品等の供給不足、検査や看護体制の確保、院内感染対策、医療廃棄物処理や環境衛生の維持、給食の確保な

ど、各医療機関も具体的な緊急対応が迫られる。医療サービスが破綻すると、重症患者の診療が不可能となり、健康被害が増悪する。その結果、社会機能の麻痺が加速され、社会基盤の破綻も懸念される事態となろう。

[ワクチン政策の重要性と緊急課題]

強毒型パンデミックで生じるこのような事態を回避・軽減するためには、入院を要する重症患者の発生を医療対応能力の範囲内に抑え、軽症化された患者の在宅治療を可能にすることが必須となる。そのためには、新型インフルエンザ出現前または出現直後に多くの国民に対してワクチン接種を行って、防御免疫を賦与しておくことが最も効率が高いと考えられている。そのためには、国民全員分のプレパンデミックワクチンを事前に備蓄または発生直後速やかに大量製造して、緊急に接種できるように事前に準備をしておくことが必要である。甚大な健康被害が出ると予想される H5N1 については、3000 万人分のプレパンデミックワクチンが国によって備蓄されている。社会機能の維持に不可欠な職種を中心に、ワクチン接種の優先順位が決められているが、その使用方法については検討中である。しかし、一般国民は、新型ウイルスが出現してから開発されるパンデミックワクチンの供給開始まで、半年以上待たねばならず、さらに国民全員を接種するには1年半もかかるのが現状である。一方、3年前に備蓄されたプレパンデミックワクチンについては有効期限が切れつつあり、補充更新が必要となっている。そこで、第1の課題として、国民全員分のプレパンデミックワクチンの備蓄を確保することが重要となろう。このためには、プレパンデミックワクチンの製造と備蓄施設に要する費用の確保が必要となる。さらに、優先接種順位の高い職種を対象として、希望者に対して段階的に先行接種を進め、安全性と有効性に関する情報を収集して、緊急時における大規模なワクチン接種に備えることが必要である。今回のパンデミックワクチンでは、十分な安全性、有効性を検証する時間が

なく、特に新規アジュバントや組織培養ワクチンについては、特例承認による輸入がなされた。しかし、そのためのリスク評価が十分になされたとは到底考えられない。安全性・有効性の確保はワクチン政策の根幹であり、特に緊急時には品質確保のための試験を十分に行う時間的な余裕が無いことから、現在承認され、備蓄されているプレパンデミックワクチンについて、拡大した臨床試験は是非とも実施すべき課題である。その結果、安全性と有効性が確保された場合には、H5N1 パンデミック出現のリスク評価の結果を考慮しつつ、より多くの人を対象とて、事前接種によって予め基礎免疫を賦与しておくことも検討すべきであろう。2 番目の対応としては、新型ウイルスが出現してから半年以内に国民全員分のパンデミックワクチンを緊急製造できる体制を確立することである。そのためには、組織培養ワクチンの実用化が最善策である。これによって、より安全性の高いワクチンが短期間で製造可能となることから、欧米のメーカーの一部では既に実用化されている。政府は、5 年後を目標に研究開発事業を進めており、今後、臨床試験の実施、製造設備の建設、製造承認の取得などの実施が計画されているが、さらにその実施を短縮することが必要となっている。このための技術的、経済的な支援の継続と更なる強化が必要である。これに加えて、接種方法が簡便で、異なる亜型や抗原変異ウイルスに対しても幅広い交差性の感染防御免疫を誘導できる経鼻投与方法の開発を進めており、これに関しても実用化に向けた支援が必要である。

[国家、地方、地域、職場・事業所、家庭・個人レベルにおける準備]

公衆衛生活動や医療サービスの対応能力には限界がある。医療施設の拡充や医療従事者の教育には時間がかかるので、緊急には対応できない。この限界を超える多数の患者が医療機関に殺到すれば、医療体制は麻痺し、通常の患者に対する医療提供も滞って、健康被害はますます増大し、

2 次的に社会機能の破綻を招く。これを回避するには、集中した流行のピークを少しでも遅らせ、また平坦化することによって、患者発生数を医療サービスの対応能力以内に留めることが必要である。それには、感染伝播のリスクを減らすこと、すなわち極力外出を避け、人との接触の機会を減らす籠城作戦が有効である。不要不急の外出、集会等の自粛は勿論である。外出の主な理由は通勤、通学、日常の買い物である。これらの感染リスクを減らすには、職場閉鎖、学校閉鎖、店舗閉鎖、交通制限等の介入手段であるが、それらの実施には、在宅勤務による業務の継続、家庭での教育の継続、食料品・日用品の事前備蓄など、社会的基盤を準備することが必須となる。また、各職場や事業所においては、社会機能維持のために維持すべき事業継続計画をたて、計画的に事業の縮小や停止、および回復計画の実施を行う必要がある。これが行われない場合には、回復不可能な事業の崩壊も予想される。このような方策の実施は大きな社会的影響、経済的損失を伴うが、強毒型の新型インフルエンザ大流行は地球レベルの大災害であり、ある程度の被害を覚悟し許容せざるを得ない。新型インフルエンザの発生リスクを少しでも低減すること、また大流行時の健康被害を最小限にとどめ、社会機能を維持するための対策準備が必要である。医療や公衆衛生のみならず、国家・社会機能の全分野に関わる問題であり、広い情報共有が必須である。特に、流行時の医療サービスの提供や社会機能の維持の実施主体は自治体であり、また全国企業の 90%以上を占める中小企業に関する指導・対応も自治体の責任である。各自治体における危機意識の共有と、事前準備・緊急対応計画の策定と実施を緊急に進める必要があり、国による適切な指導・支援が必要である。

今回の弱毒性ウイルスによるパンデミックでは健康被害や社会的影響は比較的小さかったが、H5N1 等の強毒型の新型インフルエンザに対しては、H1N1 への対応では到底対応できない。従って、強毒型パンデミックによる最悪のシナリオを想定した事前準備と対応計画を怠ってはいけない。

(H1N1) 2009 パンデミックは、弱毒性のウイルスによるもので、健康被害は比較的軽微に終始した。これに対して、予め検討され準備されていた計画に沿った適切な対応がなされず、対応には柔軟性を欠き、多くの混乱が生じた。ここで第1に反省すべきは、我が国における健康危機管理体制が全くと言ってよいほど機能していないことである。予め決定され、準備されていた計画がほぼ完全に反故にされただけでなく、感染症対応には素人である政治家などの思いつき、思惑によって、方針や支持が二転三転し、現場や地方には大きな混乱と不信感が生じてしまった。十分に事前準備されておれば、実際の健康危機事態における緊急危機対応は基本的には技術レベルの問題であり、政治体制、政権、行政トップの思惑などにより左右されてはいけないはずである。しかし、これが大きな影響を受けるとともに、技術系行政担当部署が本来の責任を十分に果たせなかったことは、危機管理体制そのものに大きな欠陥があるに違いない。個々の項目における対応についての評価、反省も重要であるが、まず第1に反省すべきは、国の危機管理に関する根本的な方針が確立されておらず、その準備も不十分であり、実効性にも大きな問題があった点である。しかし、現時点では、この根本問題の原因を究明し、どこをどのように変える必要があるのか、それには何をどのように行うべきなのかといった議論が全くなされていない。新型インフルエンザのみならず、感染症大流行による重大な健康危機は必ず繰り返されるものなので、国の危機管理体制の再構築、確立は最大の緊急課題の一つである。最悪のシナリオにも対応できる十分な事前準備と緊急対応体制の構築が必要である。これを怠れば、将来に禍根を残すこととなり、不作為の責任を問われても致し方あるまい。

[動物インフルエンザに関する情報の必要性]

一方、今回のパンデミックから反省すべき重要問題の一つは、なぜブタ由来のH1N1pdmウイルスによるパンデミックが予想されなかったのか、ま

たヒトの世界で流行を始める前になぜブタの中で検知されなかったのかという点である。もし、数か月前にブタの中で検知され、流行状況、ウイルスの性状、病原性などが解析され、適切なリスク評価がなされていれば、早期警戒警報の発令、ヒトの世界への侵入阻止手段によるパンデミックの回避が可能であったかもしれない。また、ウイルスの性状が予めわかっていたら、診断法の事前開発、ワクチンの事前開発・事前製造・臨床試験の事前実施、ワクチン先行接種などの有効な手段が取れていた可能性も高い。さらに、不必要な緊急対応を実施することなく、より適切かつ効率の良い必要十分な緊急対応手段を講じたであろう。今後繰り返されるに違いないパンデミックを回避し、または健康被害と社会・経済的影響を最小限に留めるためには、この反省に基づいた対応体制の構築が必要である。事前に動物（今回の場合にはブタと考えられる）において、新型ウイルスが検知されなかった理由は、世界のほとんどすべての国において、ブタにおいてはインフルエンザの監視が実施されていないことである。また、H5とH7を除いては、家禽のインフルエンザは報告されないことである。これでは、ヒトの新型インフルエンザの先祖となる可能性のあるウイルスが把握されず、また報告されないために、新型インフルエンザ出現のリスク評価も、健康被害の予測も不可能とならざるを得ない。ブタにおいては、トリや多くの動物、ヒトなどとは異なり、弱毒性のインフルエンザはもとより高病原性 H5N1 ウイルスが感染しても、致命的な病気にはならず、通常は軽度の呼吸器疾患や不顕性感染に終始する。そのため、どこの国においても、養豚業者や農政担当部局にとって、ブタのインフルエンザは重要な疾患とは捉えられておらず、監視に対する熱意は低い。一方、ブタにおけるインフルエンザの検査を実施すれば、ブタ型ウイルスやヒトの季節性インフルエンザを含む様々なウイルスが検出されてくる可能性があり、無用な風評被害が起こって経済的な影響も懸念される。従って、畜産・農業分野においては、積極的にブタにおける

インフルエンザの監視を実施することが考慮されることはなく、むしろ余計なことをしてくれるなどの反対意見も強い。さらに、もしブタにおいてヒトのパンデミックの可能性のあるウイルス（例えば高病原性 H5N1 や H7N7 など）が検出された際には、どのような対応を取るべきなのかも国内外において明確には規定されていない。その場合には、ブタそのものには健康被害はないとしても、接触する農家には感染の危険もあり、さらに周囲への伝播拡大や新型ウイルスへの進展も危惧される。家禽の場合と同様に、広範囲の隔離、検疫、移動制限、さらには屠殺も考慮すべきなのか、実施すべきなのかについての議論はほとんどない。一方、家禽においては、高病原性鳥インフルエンザウイルスとされる H5 と H7 亜型（農水省による定義では、強毒型のみならず、弱毒型も同様に殺処分、移動制限などの対応の対象となることから、すべての H5 と H7）については、OIE 規則や家畜伝染病予防法によって厳しい対応がなされている。しかし、それ以外の亜型ウイルスについては、家禽への健康被害が生じないか無視できることから、感染事例に関する報告の義務はない。たとえ検出されても報告されることもなく、報告されたとしても特別な対応は執られていない。しかし、このようなトリやブタのインフルエンザは、ヒトへの感染原として、また新型インフルエンザ出現への直近のウイルスとして、公衆衛生にとって無視できないばかりか、非常に重要な問題である。新型インフルエンザ出現のリスク評価、流行程度や健康被害の予測などは、これらの動物インフルエンザの流行疫学状況やウイルスの性状などに関する情報無しには不可能である。また、先に述べたように、未だ動物のインフルエンザに留まっている間に、そこで封じ込め、ヒトへの侵入を阻止することが望ましいことは言うまでもない。この際に、敵の存在とその本体を知らなければ対応は不可能であろう。さらに、ヒトの新型インフルエンザが出現した場合も、先まわって、診断法やワクチンの準備を進めておけば、流行拡大を抑え、健康被害の発生を最小に留める

ことにも可能性が出てくる。では、トリやブタなど動物のインフルエンザに対する監視モニターをどのように実施させるのかが大きな問題となる。インフルエンザは人獣共通感染症の代表であり、動物の健康はそのままヒトの健康に直結する。まさに「One flu, One health」なのであり、その病原体であるインフルエンザウイルスは動物とヒトに共通のウイルスである。これを境の無い一つの問題として捉え、お互いの壁と超えた協力関係の構築が、インフルエンザ問題の解決には必須な作業である。

現在、FAO, OIE, WHO が協力して、「One flu, One health」の合言葉のもとに、animal sectors と public health sectors を横断的に統合するような総合的インフルエンザ対策の実施体制の構築を検討している。我が国においても、このような取り組みが必要であり、官庁部局の壁を越えた協力体制の確立を目指す必要がある。

E. 結論

国内外の緊急事態に即応する新型インフルエンザ危機管理体制を再構築する必要がある。わが国でも厚生労働省が中心となり、平成 16 年以来、新型インフルエンザ対策行動計画の策定と改定、具体的な行動計画細目をガイドラインとして策定し、必要な法改正等を行ってきた。しかし一方で、新型インフルエンザの出現時期が予想不可能であるために、新型インフルエンザの危機が生じてから 6 年目を迎え、関係者間での危機感の共有と政策実施の継続が困難となっていた。ここに、弱毒型の A(H1N1) pdm ウイルスによる比較的軽度のパンデミックが起こった。そのために、健康被害はそれほど大きくなり、社会的影響も比較的小さかった。その結果、新型インフルエンザに対する認識が後退し、たいしたことはないとの誤った安心感が広がり、却って危機感が後退している。一方で、初期の過剰対応やワクチン政策の混乱などから、政府の対応に対する批判が広がり、新型インフルエンザに対する危機管理、危機対応の問題意識が後退している。そこで、今回の

対応を反省し、最悪のシナリオにも対応できるような、より効果的で必要十分な新型インフルエンザへの準備を強化すべきである。新型インフルエンザ出現の可能性、リスク評価、それに基づく緊急時前対応などは、動物インフルエンザにおける情報が不可欠である。従って、「One Flu」を基盤として、獣医学・農業セクターと医学・公衆衛生セクターとの協力体制の確立が必要である。

F. 健康危害情報

A(H1N1) pdm ウイルスは弱毒型であり、免疫学的にも季節性 H1N1 ウイルスと交差する免疫学的性状を持つ。従って、H5N1 で予想されるような膨大な健康被害や壊滅的な社会的影響は生じない。一方、H5N1 強毒型の新型インフルエンザ出現のリスクは減っておらず、これから新型ウイルスが出現した際の影響を考慮すると、最悪の状況に備えた十分な事前準備と緊急対応計画を再検討し、早急に十分な準備をすすめることは必須である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kamijuku H., Nagata, Y., Ichinose, T., Jiang X., Tashiro, T., Mori, K., Taniguchi, Y., Hase, K., Ohno, S, himaoka, T., Tonehara, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Sata, T., Hasegawa, H., Seino, K.: Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of α -galactosylceramide which can induce cross-protection against influenza viruses. *Mucosal Immunol.* 1: 208-218, 2008
2. Russell, C. A., Jones, T. C., Barr, I. G., Cox, N. J., Gregory, V., Gust, I. D., Hampson, A. W., Hay, A. J., Hurt, A. C., de Jong, J. C., Kelso, A., Klimov, A. I., Kageyama, T., Komadina, N., Lapedes, A. S., Lin, Y. P., Mosterin, A., Obuchi, M., Odagiri, T., Osterhaus, A. D.M.E., Rimmelzwaan, G. F., Shaw, M. W., Skepner, E., Stohr, K., Tashiro, M., Fouchier, R. A.M., Smith, D. J. : The global circulation of seasonal influenza A(H3N2) viruses *Science* 320:340-346, 2008
3. Ogata, T., Yamazaki, Y., Okabe, N., Nakamura, Y., Tashiro, M., Nagata, N., Itamura, S., Yasui, Y., Nakashima, K., Doi, M., Izumi, Y., Fujieda, T., Yamato, S., Kawada, Y. : H5N2 influenza infection to human in Japan and association of seasonal influenza vaccination with positive H5N2 neutralizing antibody *J. Epidemiol.* 18: 160-166, 2008
4. Kubota, T., Matuoka, M., Chang, T.-H., Taylor, P., Sasaki, T., Tashiro, M., Kato, A., Ozato, K. Virus infection triggers SUMOylation of IRF3 and IRF7, leading to the negative regulation of type 1 interferon gene expression. *J. Biol. Chem.* 283: 25660-25670, 2008
5. Russell, C. A., Jones, T. C., Barr, I. G., Cox, N. J., Gregory, V., Gust, I. D., Hampson, A. W., Hay, A. J., Hurt, A. C., de Jong, J. C., Kelso, A., Klimov, A. I., Kageyama, T., Komadina, N., Lapedes, A. S., Lin, Y. P., Mosterin, A., Obuchi, M., Odagiri, T., Osterhaus, A. D.M.E., Rimmelzwaan, G. F., Shaw, M. W., Skepner, E., Stohr, K., Tashiro, M., Fouchier, R. A.M., Smith, D. J.: Influenza Vaccine strain selection and recent studies on the global migration of seasonal influenza viruses *Vaccine* 26: 31-34, 2008.
6. Makizumi, K., Kimachi, K., Fukada, K., Nishimura, T., Kudo, Y., Goto, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Kino, Y.: Timely production of A/Fujian-like influenza vaccine matching the 2003–2004 epidemic strain may have been possible using Madin–Darby canine kidney cells *Vaccine*, 26: 6852-6858, 2008
7. Nicoll, A., Mori, K., Tashiro, M., Winston Churchill and the Russian Pandemic of 1890-91 *Br. Med. J.* 337: 2890, 2008
8. Kawakami, C., Obuchi, M., Saikusa, M., Noguchi, Y., Ujike, M., Odagiri, T., Tashiro, M.: Outbreaks of oseltamivir-resistant influenza A/H1N1 virus in an elementary school and a family in Yokohama City, Japan during the 2007-2008 season. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62: 83-86,

- 2009.
9. Takahashi, Y., Hasegawa, H., Hara, Y., Ato, N., Ninomiya, A., Takagi, H., Odagiri, T., Sata, T., Tashiro, M., Kobayashi, M. :Protective immunity afforded by H5N1 (NIBRG-14) – inactivated vaccine requires both antibodies against hemagglutinin and neuraminidase in mice. *J. Infect. Dis.* 199; 1629-1637, 2009
 10. Wada, T., Morishima, T., Okumura, A., Tashiro, M., Hosoya, M., Shiomi, M., Okuno, Y.: Differences in clinical manifestations of influenza-associated encephalopathy by age. *Microbiol. Immunol.* 53: 83-88, 2009
 11. Ikeno, D., Kimachi, K., Kudo, Y., Goto, S., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Kino, Y.: The prime-boost vaccination of H5N1 heterologous strains in a mouse model :Vaccine: 27, 3121-3125, 2009.
 12. Thongratsaku, S., Songserm, T., Poolkhet, C., Kondo, S., Yagi, H. Hiramatsu, H., Tashiro, M., Okada, H., Kato, K., Suzuki, Y. :Determination of N-linked sialyl-sugar chains in the lungs of domestic cats and dogs in Thailand susceptible to the highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *Open Glycoscience* , 2:28-36, 2009.
 13. Ichinohe, T., Tashiro, M., Sata, T., Hasegawa, H. :PolyI:PolyC₁₂U adjuvant-combined intranasal vaccine protects mice against highly pathogenic H5N1 influenza virus variants. *Vaccine* 27; 6276-6279, 2009
 14. Tashiro, M., McKimm-Breschkin, J., Saito, T., Klimov, A., Macken, C., Zambon, M., Hayden, F.: Surveillance for neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses in Japan, 1996-2007. *Antiviral Therapy* 14: 751-761, 2009
 15. 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.* 3: 59-62, 2009.
 16. Sriwilaijaroen, N., Wilairat, P., Hiramatsu, H., Takahashi, T., Suzuki, T., Ito, M., Ito, Y., Tashiro, M., Suzuki Y.: Mechanisms of the action of povidone-iodine against human and avian influenza A viruses: its effects on hemagglutination and sialidase activities. *Virology Journal.* 6:124, 2009
 17. Bertozzi, S., Kelso, A., Tashiro, M., Savy, V., Farrar, J., Osterholm, M., Jameel S., Muller, C.P. :Pandemic flu: from front lines. *Nature* 461; 20-21, 2009
 18. Ichinohe, T., Aina, A., Nakamura, T., Akiyama, Y., Maeyama, J., Odagiri, T., Tashiro, M., Takahashi, H., Sawa, H., Tamura, S., Chiba, J., Kurata, T., Sata, T., Hasegawa, H. Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by an intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia *J. Med. Virol.* 82: 128-137, 2010.
 19. Barr, I. G., McCauley, J., Cox, N., Daniel, R., Engelhardt, O. G., Fukuda, K., Grohmann, G., Hay, A., Kelso, A., Klimov, A., Odagiri, T., Smith, D., Russell, C., Tashiro, M., Webby, R., Wood, J., Ye, Z., Zhang, W., Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2009–2010. Epidemiological, antigenic and genetic characteristics of seasonal influenza A(H1N1), A(H3N2) and B influenza viruses: Basis for the WHO recommendation on the composition of influenza vaccines for use in the 2009–2010 northern hemisphere season. *Vaccine* 28: 1156–1167, 2010.
 20. Nakajima, N., Hata, S., Sato, Y., Tobiume, M., Katano, H., Kaneko, K., Nagata, N., Kataoka, M., Aina, A., Hasegawa, H., Tashiro, M., Odai, T., Urasawa, N., Ogino, T., Hanaoka, H., Watanabe, M.,

- Sata, T. First autopsy case with pandemic influenza (A/H1N1pdm) virus infection in Japan: Detection of high copy number of the virus in type II alveolar epithelial cells by pathological and virological examination. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63; 67-71, 2010.
21. Matsuzaki, Y., Mizuta, K., Aoki, Y., Suto, A., Abiko, C., Sanjoh, K., Sugawara, K., Takashita, E., Itagaki, T., Katsushima, Y., Ujike, M., Obuchi, M., Odagiri, T., Tashiro, M. A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir *Virology J.* 7:53, 2010.
 22. Ichinohe, T., Ainai, A., Ami, Y., Nagata, N., Iwata, N., Kawaguchi, A., Suzuki, Y., Odagiri, T., Tashiro, M., Takahashi, H., Strayer, D. R., Carter, W. A., Chiba, J., Tamura, S., Sata, T., Kurata, T., Hasegawa, H., Ichinohe, T. Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus. *J. Med. Virol.* Volume 82; 1754–1761, 2010
 23. Ujike, M., Shimabukuro, K., Mochizuki, K., Obuchi, M., Kageyama, T., Shirakura, M., Kishida, N., Yamashita, K., Horikawa, H., Kato, Y., Fujita, J., Tashiro, M., Odagiri, T., The working group of influenza virus surveillance in Japan. Oseltamivir-Resistant Influenza Viruses A(H1N1) during the 2007-2009 Influenza Seasons, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 16; 926-935, 2010
 24. Oakley, A J., Barrett, S., Peat, T.S., Newman, J., Victor A., Streltsov, V. A., Waddington, L., Saito, T., Tashiro, M., McKimm-Breschkin, J. L. Structural and functional basis of resistance to neuraminidase Inhibitors of Influenza B viruses. *Med. Chem.* 2010. DOI: 10:1021/jm 100621s
 25. Kuroda, M., Katano, H., Nakajima, N., Tobiume, M., Ainai, A., Sekizuka, T., Hasegawa, H., Tashiro, M., Sasaki, Y., Arakawa, Y., Hata, S., Watanabe, M., Sata, T. Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by *de novo* sequencing using a next-generation DNA sequencer. *PLoS ONE* 5(4): e10256, 2010. (doi:10.1371/journal.pone.0010256)
 26. Shiino, T., Okabe, N., Yasui, Y., Sunagawa, A., Ujike, M., Obuchi, M., Kishida, N., Xu, H., Takashita, E., Anraku, A., Ito, R., Doi, T., Ejima, M., Sugawara, H., Horikawa, H., Yamazaki, S., Kato, Y., Fujita, N., Odagiri, T., Tashiro, M., Watanabe, H. Molecular evolutionary analysis of the influenza A(H1N1)pdm viruses, May–September, 2009: Temporal and spatial spreading profile of viral isolates in Japan *PLoS ONE* 5(6): e11057. doi:10.1371/journal.pone.0011057
 27. Ikeno, D., Kimachi, K., Kino, Y., Harada, S., Yoshida, K., Tochiwara, S., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Okada, K., Miyazaki, C., Ueda, K. Immunogenicity of an inactivated, adjuvanted whole-virion influenza A(H5N1, NIBRG-14) vaccine administered by intramuscular or subcutaneous injection. *Microbiol. Immunol.* 54: 81-88, 2010
 28. Nakauchi, M., Yoshikawa, T., Nakai, H., Sugata, K., Yoshikawa, A., Asano, Y., Ihira, H., Tashiro, M., Kageyama, T. Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus. *J. Med. Virol.* 83:10-15 2011
 29. Kageyama, T., Shirakura, M., Kishida, N., Nakauchi, M., Obuchi, M., Ujike, M., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M. Establishment of a diagnostic system for the pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus in Japan using conventional and real-time RT-PCR assays. *Jpn. J. Infect. Dis.* (in press, 2011)
 30. Shindo, N., Brown, C., Ciancio, B., Cox, N., Daniel, R., Fasce, R., Fukuda, K., Hay, A., Hayden, F., Hungnes, O., Kelso, A., Klimov, A., Kramarz, P., Lina, B., Meijer, A., Nicoll, A., Phin, N., Opp, M., Schmaltz, C., Schweiger, B., Tashiro, M., Van der