

プロジェクト 3 : ウイルス

高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ

アジア地域の研究機関と連携したインフルエンザウイルスの流行・診断・
ワクチンの品質管理試験法の標準化に関する研究

分担研究者 田代真人 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

研究要旨 高病原性鳥インフルエンザ H5N1 亜型ウイルスは 1997 年以降、東南アジア地域から中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へと広がり、ヒトへの感染例も多数報告され、鳥インフルエンザウイルスから変異した新型インフルエンザの発生が危惧されている。アジアの各国の研究機関にて高病原性鳥インフルエンザウイルスを安全かつ確実に診断できるようにするため、各国の研究者が高度なバイオセーフティー技術の取得および微生物学的知識と検査診断技術の取得を目的とする育成トレーニングを行った。また、韓国、中国、台湾、ミャンマー、ラオス、モンゴルおよびシンガポールなど東アジア諸国のインフルエンザセンターとの連携により、当該地域での季節性インフルエンザ流行株を入手した。これら流行株の抗原性、遺伝子性状の解析、およびノイラミニダーゼ阻害剤（オセルタミビルおよびザナミビル）感受性試験を実施し、流行株および薬剤耐性株の性状と流行状況を調べた。これらの成績をウイルス提供国とタイムリーに情報共有し、それぞれの国のインフルエンザ対策に貢献した。また、アジア地域の流行株の解析成績をもとにワクチン候補株の検索を行った。一方、2009 年 5 月から世界的な大流行を起こしたブタ由来の新型 A/H1N1 インフルエンザ流行株（A/H1N1pdm）についても、近隣諸国からウイルスを収集し、季節性インフルエンザウイルスと同様の実態調査を行った。その結果、A/H1N1pdm ウイルス流行以降は、本ウイルスが流行株の 99%を占め、抗原性、遺伝子性状ともにワクチン株 A/California/7/2009 と極めて類似していることが明らかになった。また、新型ウイルスの殆どはオセルタミビルおよびザナミビルに感受性であり、耐性株はオセルタミビルの予防投与または治療投与からまれに散見される程度であった。これらの情報は、WHO グローバルインフルエンザサーベイランス参加国とも共有され、世界の新型インフルエンザ対策に貢献できた。インフルエンザ・パンデミック対策にはワクチンは要のひとつとなるが、ワクチンの品質管理はその基盤となるものである。インフルエンザワクチンの力価試験（一元放射免疫拡散試験法 [SRD 試験法]）のアジア地域での標準化及びアジア地域でのインフルエンザワクチンの品質管理研究機関の連携強化を目的として、SRD 試験の実験室内再現性についてインドネシアの国立試験研究機関である National Quality Control Laboratory of Drug and Food（国立医薬食品品質管理研究室）との間で共同研究を実施した。測定基準を含めて標準化された試験手順に基づいて試験を実施すると、従来得られていた試験成績と同等の再現性が得られることが判った。今後、連携する試験研究機関の実験室間再現性を検討していくことが重要な課題であり、このような共同研究を随時実施していくことでインフルエンザワクチンの品質管理精度を連携試験研究機関で一定にすることが可能になり、その結果、品質の一定したワクチンの供給が実現することが期待される。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザ H5N1 亜型ウ

イルスは 1997 年以降、東南アジア地域から中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へ

と広がり、ヒトへの感染例も多数報告され、2011年2月9日時点で15カ国520人の感染患者が確認され307人が死に至っている。多くの流行地では、このウイルスに感染した鳥との濃厚接触により感染する例が多く、突然変異により、あるいはブタなどの動物等にも感染するため、感染した動物の中で、ヒト・鳥・ブタインフルエンザウイルスとの遺伝子交雑により、新たなウイルス株が出現するなどによって、このインフルエンザウイルスを由来とするヒトからヒトに感染しやすい新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。多くの国々ではインフルエンザウイルスの診断は実験室診断により行われているが、作業中に実験室内感染を引き起こす可能性があるため、作業者の安全を確保して診断を的確に行う事が非常に重要である。また、インフルエンザは簡単に国境を越えて地球規模で健康被害を出す疾患であることから、近隣諸国との連携による株サーベイランス、診断検査協力、タイムリーな情報交換がスムーズにできる体制構築がインフルエンザ対策上きわめて重要である。そのためには、日頃から近隣諸国との信頼関係を築き、臨床検体や分離株を必要に応じて迅速に供給してもらえる体制作りと継続的な技術協力を進めて行かなければならない。

本研究では、1) アジアの各国研究機関にて、高度なバイオセーフティー技術の取得および微生物学的知識と検査診断技術を取得した研究者の育成を行い、高病原性鳥インフルエンザウイルスを安全かつ確実に診断できるようにするとともに海外より送付された検体に対する診断サポート、2) 東アジア諸国のインフルエンザウイルス研究機関と連携により、季節性および新型インフルエンザ流行株の性状や薬剤耐性株の発生状況を詳細に調査し、その情報を連携国およびWHOと共有することで、それぞれの国、さらには世界のインフルエンザ対策に貢献する、3) 感染研からウイルスサーベイランスに必要な標準抗血清、培養細胞および研

究技術を提供し、東アジア諸国のサーベイランス水準を欧米レベルまでに高める、4) 東アジア地域から分離されるインフルエンザウイルスから適正なワクチン株を供給できる協力ネットワークを維持する、5) アジア地域におけるインフルエンザワクチンの力価試験法を標準化する、などを目的としている。本研究に協力した国との連携網の概略を図1に示した。

B. 研究方法

アジアの各国研究機関における実験室診断の機能強化および海外より送付された検体に対する高病原性鳥インフルエンザの診断サポート

1. 2008年以降、ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)における、BSL3実験室を利用した高病原性鳥インフルエンザウイルスの実験室診断を安全かつ確実に行えるように、研究員に対する診断技術向上に関するトレーニングを行った。また、2008年に中国広州医学院第一附属医院呼吸器疾患研究所の研究員を招集して、鳥インフルエンザウイルスの診断に関するトレーニングを行うなどし、アジア近隣諸国の高病原性鳥インフルエンザウイルスの診断技術向上を図った。
2. 2008年にミャンマー、ラオスで発生した高病原性H5N1鳥インフルエンザ感染疑い患者検体に対して診断のサポートを行った。

東アジア諸国のインフルエンザウイルス研究機関との連携によるインフルエンザウイルスサーベイランス機能の強化

1. 本研究本プロジェクトに協力した国は、韓国、中国、ラオス、ミャンマー、モンゴル、シンガポール、ベトナムである。
2. これらの国で採取した臨床検体、分離株を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へ送付してもらった。
3. 分離株について、抗原性解析、赤血球凝集素(HA)遺伝子の進化系統樹解析、およびオセルタミビル、ザナミビル耐性株検出試験を実施した。

アジア地域の品質管理研究機関とのインフルエンザワクチンの力価試験法の標準化

参照インフルエンザ HA ワクチン（卵中和試験用）に含有されるインフルエンザワクチン株に対するそれぞれの標準抗原、参照抗血清を用いて、標準化された試験手順に従って力価試験（一元放射免疫拡散試験法[SRD 試験法]）をインドネシアの国立試験研究機関である National Quality Control Laboratory of Drug and Food（国立医薬食品品質管理研究室）との間で共同研究として実施した。同一試験の結果測定による個人ごとのばらつき及び同一研究室内で実験を独立して繰り返しその再現性について検討した。

C. 研究結果

NIHE における高病原性鳥インフルエンザ H5N1 亜型ウイルスの実験室診断用の SOP がほぼ完成し、ベトナム初となる BSL3 施設を使用して、安全かつ精度の高い確実な高病原性鳥インフルエンザの実験室診断ができるようになった。

2008 年にミャンマー、ラオスの高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ感染疑い患者の検体を送付してもらい、感染研で構築した H5N1 遺伝子検出 PCR 系により検査を行った結果、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザである事を確認した。検体よりウイルス分離を行い、抗原解析および遺伝子解析を実施した結果、これらの国々ではクレード 2.3.4 に分類されるウイルス株が流行し、中国や東南アジア周辺国では、このクレードが流行の主流になっていることが示唆された。一方、日本の北海道や東北で死亡した白鳥から分離された H5N1 株は、解析の結果クレード 2.3.2 に分類されることが分かり、わが国に野鳥によって持ち込まれたウイルス株は東南アジアの株とは異なることが示された。

2007/08 シーズンには、国内および中国、台湾、韓国、モンゴルから A/H1N1 株 113 株、

A/H3N2 株 75 株、B 型株 114 株を収集した。また、2008/09 シーズンには、これらの国に加えてシンガポール、ミャンマー、ラオス、シリア、グアムから分離株 393 株、臨床検体 152 件を収集した。

ウイルス分離株については、亜型ごとに標準参照フェレット抗血清を用いて、抗原性解析を実施した。また、赤血球凝集素 HA 遺伝子およびノイラミニダーゼ NA 遺伝子の塩基配列の決定と系統樹解析を行った。その結果、A/H1N1 亜型は A/ソロモン諸島/3/2006 類似株から A/ブリスベン/59/2007 類似株へ変化し、A/H3N2 亜型は A/広島/52/2005 類似株から A/ブリスベン/10/2007 類似株へ、さらに A/パース/16/2009 類似株へ変化したことが明らかになった。特に、A/H3N2 亜型ではこれらの抗原性変化は、東南アジア諸国がわが国より早く起る傾向がみられ、東南アジア諸国でのウイルス株サーベイランスが次シーズンの北半球諸国での流行予測をする上で、極めて重要な鍵を握ることが示唆された。一方、B 型は山形系統株からビクトリア系統株へ流行パターンが変化し、分離株の抗原性もそれぞれの系統から選定されたワクチン株から大きく変化していることが明らかとなった。

2007/08 シーズンに北欧を中心にオセルタミビル（タミフル®）耐性の季節性 A/H1N1 株の世界的な流行、拡大が始まり、タミフルをインフルエンザの治療に多用しているわが国にとっては、深刻な問題となった。このため、国内の季節性 A/H1N1 流行株の性状のみならず、周辺諸国で分離される A/H1N1 株についても解析することは極めて重要であった。本研究では、上記の国から収集した株について、タミフル耐性遺伝子マーカーの同定と薬剤感受性試験を実施したところ、2007/08 シーズン分離株では国内分離株も周辺諸国分離株も欧米諸国とは異なり、殆どがタミフル感受性であることが分かった。一方、2008/09 シーズンになると、状況は一変し、国内外とも分離株のほぼ全てがタミフル耐性であり、東アジア地域も耐性株に置き換わったことが確認された。

この結果は、速やかにウイルス送付国へ還元し、注意喚起できた。また国内医療機関へも適宜情報提供し、治療戦略の検討に貢献した。

2008/09 シーズンの5月以降から、ブタインフルエンザウイルス由来の新型 A/H1N1 ウイルスによるパンデミックが起こった。ミャンマー、ラオス、モンゴルからは臨床検体を受け入れ、感染研で新型インフルエンザ用に構築した PCR 診断系が高感度に稼働することが確認され、これらのマニュアルを連携している周辺諸国へ提供することができた。また、検体からウイルスを回収し、性状解析したところ、国内分離株と抗原性、遺伝子配列はほぼ同じであることが分かった。すなわち、東アジア地域での新型流行株は欧米、南半球諸国での流行株と類似していることが確認された。

2009/10 シーズンは、ラオス、ミャンマー、モンゴル、韓国、台湾、中国などの近隣諸国から、総数 199 株のウイルスを収集し、抗原性および遺伝子系統樹解析を実施した。その結果、2009 年のパンデミック発生以降は、ラオスで 9-10 月に季節性 A/H1N1 ウイルスが分離された以外は、どの国でも本ウイルスは検出されなくなったことが分かった。すなわち、東アジア地区においても、もはや季節性 A/H1N1 ウイルスは消滅しつつあることを明確に示していた。

また、これら共同研究をした国からのウイルスの分析およびわが国の流行株の分析から、流行株は、パンデミック A/H1N1, H3N2, B 型ウイルスとも 2008/09 シーズンから殆ど変化していないことが明らかになった。よって、アジア地域では、ワクチン株の変更は必要ないという重要な情報を WHO へ提供できた。

一方、2010 年 10 月中旬の 2 週間、台湾 CDC からインフルエンザ株サーベイランス担当者を研修生として受け入れ、感染研におけるウイルス解析法、サーベイランスシステムの実技研修を実施し、台湾 CDC のシステムとの違いや類似点等、今後改善しなければならない点につ

いて、徹底的に協議をした。これによって、台湾 CDC および感染研双方の信頼関係が深まり、今後の株サーベイランスでの連携が期待できる。

インフルエンザワクチンの力価試験 (SRD 試験) の実験室内再現性についてインドネシアの国立試験研究機関である National Quality Control Laboratory of Drug and Food (国立医薬食品品質管理研究室) との間で共同研究を実施した。測定基準を含めて標準化された試験手順に基づいて試験を実施すると、従来得られていた試験成績と同等の再現性が得られることが判った。

D. 考察

検査診断の精度管理については、その重要性がかなり理解されるようになったが、今後はきちんとした検査診断が維持されているかどうかの確認や、新人に対してはもちろんの事、通常検査診断を行っている研究者達に対する精度管理維持に向けた教育を重点的に行い、高い検査精度を維持し続けていく事が非常に重要となる。

東アジア地域の近隣諸国との協力により、インフルエンザ株サーベイランス網が構築された。このネットワークを駆使して、連携国で採取された臨床検体や分離株を共有することで、流行状況をタイムリーに把握し、その情報は逐一還元することで、それぞれの国でのインフルエンザ対策に貢献することができた。今後は、連携国と共同でインフルエンザ診断検査キットの開発を進めていくことが期待される。また、より広範な地域からのサーベイランス情報収集を可能にするためには、さらに多くの近隣諸国との協力関係を構築しなければならない。このためには、近隣諸国からの研修生の受け入れや研究スタッフを現地へ派遣するなど、技術支援をベースにした積極的な交流をしていくことが重要である。

インフルエンザワクチンの力価試験 (SRD 試験) の実験室間、実験室内再現性についてはこれまでの研究で、標準化された試験手順に従って実施すると比較的高い再現性が得られることが知られているが、本研究でも従来の結果を支持する

結果が得られた。加えて標準抗原と参照抗血清の組合せによる沈降輪の不明瞭さに基づく測定基準の標準化が重要であることが明らかとなった。本研究は同一実験室内での再現性について期待される結果が得られたが、今後連携する試験研究機関の実験室で試験を実施した際の、実験室間での再現性を検討していく必要がある。このような共同研究を随時実施していくことでインフルエンザワクチンの品質管理精度を連携試験研究機関で一定にすることが可能になり、その結果品質の一定したワクチンの供給が実現することが期待される。

E. 結論

海外での鳥インフルエンザの診断が正確に行われ、より迅速に正確な鳥インフルエンザの流行状況を把握する事で、わが国の新型インフルエンザ対策にも寄与すると考えられる。今後、鳥インフルエンザが世界中に蔓延した際に、このウイルスを由来とする新型インフルエンザ発生のリスクを少なくするためには、流行国における家禽での鳥インフルエンザウイルスの流行をコントロールする事が非常に重要となる。鳥インフルエンザの流行をコントロールするためには、まずは正確に鳥インフルエンザを診断できるようにすることが非常に重要で、次いで実験室診断において作業者が二次感染しないよう、安全に病原体を取り扱う事ができるように、設備面でのサポートおよび教育が重要となる。

韓国、中国、ラオス、ミャンマー、モンゴル、シンガポール、ベトナムなど連携国からインフルエンザ流行株を収集し、季節性および新型インフルエンザウイルスの性状を明確にした。また、オセルタミビル耐性株の流行状況を把握し、国内外ともに季節性 A/H1N1 ウイルスは、耐性であることが分かった。中国では、依然感受性株が分離株の半数を占めていたが、耐性株が急速に増加していることが分かった。新型インフルエンザウイルスでは、オセルタミビル耐性

株は散発的にしか発生していないことが分かった。今後も近隣諸国と連携、協力したインフルエンザ株サーベイランスの継続が重要である。

インフルエンザワクチンの力価試験 (SRD 試験) のアジア地域での標準化及びアジア地域でのインフルエンザワクチンの品質管理研究機関の連携強化を目的として、SRD 試験の実験室内再現性についてインドネシアの国立試験研究機関である National Quality Control Laboratory of Drug and Food (国立医薬食品品質管理研究室) との間で共同研究を実施した。測定基準を含めて標準化された試験手順に基づいて試験を実施すると、従来得られていた試験成績と同等の再現性が得られることが判った。今後、連携する試験研究機関の実験室間再現性を検討していくことが重要な課題である。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

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.

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

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
- 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.
- Akiyama, M., Kimura, H., Tsukagoshi, H., Taira, K., Mizuta, K., Saitoh, M., Nagano, M., Sutoh, A., Noda, M., Morita, Y., Sakatsume, O., Okabe, N., Tashiro, M. :Development of assay for the detection and quantitation of measles virus nucleoprotein (N) gene using real-time reverse transcription polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) *J. Med. Microbiol.* 58: 638-643, 2009.
- 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.
- 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
- 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
- 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.
- 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.* 58: 311-313, 2009.
- 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 I influenza A viruses: its effects on hemagglutination and sialidase activities. *Virology Journal.* 6:124, 2009
- Kubota, T., Matsuoka, M., Chang, T.-H., Bray, M., Jones, S., Tashiro, M., Kato, A., Ozato, K. Ebola virus VP35 interacts with the cytoplasmic dynein light chain 8. *J. Virol.* 83: 6952-6956, 2009.
- 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
- Mizuta, K., Hirata, A., Suto, A., Aoki, Y., Ahiko, T., Itagaki, T., Tsukagoshi, T., Morita, Y., Obuchi, M., Akiyama, M., Okabe, N., Noda, M., Tashiro, M., Kimura, H.:Phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus species A (HRV-A) isolated from

children with acute respiratory infections in Yamagata, Japan. *Virus Research* 147: 265-274, 2009

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.

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.

Aaron J Oakley, Susan Barrett, Thomas S Peat, Janet Newman, Victor A Streltsov, Lynne Waddington, Takehiko Saito, Masato Tashiro, Jennifer L McKimm-Breschkin: Structural and functional basis of resistance to neuraminidase inhibitors of influenza B viruses. *J Med Chem* 53, 6421-31(2010)

Takeshi Ichinohe, Akira Aina, Yasushi Ami, Noriyo Nagata, Naoko Iwata, Akira Kawaguchi, Yuriko Suzaki, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Hidehiro Takahashi, David R Strayer, William A Carter, Joe Chiba, Shin-ichi Tamura, Tetsutaro Sata, Takeshi Kurata, Hideki Hasegawa: Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly

pathogenic influenza A H5N1 virus. *J Med Virol* 82,1754-61(2010)

Yuma Iwai, Hitoshi Takahashi, Dai Hatakeyama, Kazunori Motoshima, Minoru Ishikawa, Kazuyuki Sugita, Yuichi Hashimoto, Yuichi Harada, Shigeyuki Itamura, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Yoshihisa Sei, Kentaro Yamaguchi, Takashi Kuzuhara: Anti-influenza activity of phenethylphenylphthalimide analogs derived from thalidomide. *Bioorg Med Chem* 18,5379-90(2010)

Makoto Ujike, Kozue Shimabukuro, Kiku Mochizuki, Masatsugu Obuchi, Tsutomu Kageyama, Masayuki Shirakura, Noriko Kishida, Kazuyo Yamashita, Hiroshi Horikawa, Yumiko Kato, Nobuyuki Fujita, Masato Tashiro, Takato Odagiri, Working Group for Influenza Virus Surveillance in Japan: Oseltamivir-resistant influenza viruses A (H1N1) during 2007-2009 influenza seasons, Japan. *Emerging Infect Dis* 16, 926-35 (2010)

Akira Aina, Takeshi Ichinohe, Shin-ichi Tamura, Takeshi Kurata, Tetsutaro Sata, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa: Zymosan enhances the mucosal adjuvant activity of poly(I:C) in a nasal influenza vaccine. *J Med Virol* 82,476-84 (2010)

Ian G Barr, John McCauley, Nancy Cox, Rod Daniels, Othmar G Engelhardt, Keiji Fukuda, Gary Grohmann, Alan Hay, Anne Kelso, Alexander Klimov, Takato Odagiri, Derek Smith, Colin Russell, Masato Tashiro, Richard Webby, John Wood, Zhiping Ye, Wenqing Zhang, 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* 28,1156-67(2010)

Daisuke Ikeno, Kazuhiko Kimachi, Yoichiro Kino, Seiichi Harada, Kayo Yoshida, Shinji Tochiwara, Shigeyuki Itamura, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Kenji Okada, Chiaki Miyazaki, Kohji Ueda: Immunogenicity of an inactivated adjuvanted whole-virion influenza A (H5N1, NIBRG-14) vaccine administered by intramuscular or subcutaneous injection. *Microbiol Immunol* 54,81-8 (2010)

Makoto Kuroda, Harutaka Katano, Noriko Nakajima, Minoru Tobiume, Akira Ainai, Tsuyoshi Sekizuka, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro, Yuko Sasaki, Yoshichika Arakawa, Satoru Hata, Masahide Watanabe, Tetsutaro Sata: 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,e10256 (2010)

Yoko Matsuzaki, Katsumi Mizuta, Yoko Aoki, Asuka Suto, Chieko Abiko, Kanako Sanjoh, Kanetsu Sugawara, Emi Takashita, Tsutomu Itagaki, Yuriko Katsushima, Makoto Ujike, Masatsugu Obuchi, Takato Odagiri, Masato Tashiro: A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir. *Virology* 50,53 (2010)

Teiichiro Shiino, Nobuhiko Okabe, Yoshinori Yasui, Tomimasa Sunagawa, Makoto Ujike, Masatsugu Obuchi, Noriko Kishida, Hong Xu, Emi Takashita, Akane Anraku, Reiko Ito, Teruko Doi, Miho Ejima, Hiromi Sugawara, Hiroshi Horikawa, Shuji Yamazaki, Yumiko Kato, Akio Oguchi, Nobuyuki Fujita, Takato Odagiri, Masato Tashiro,

Haruo Watanabe: Molecular evolutionary analysis of the influenza A(H1N1)pdm, May-September, 2009: temporal and spatial spreading profile of the viruses in Japan. *PLoS ONE* 5,e11057 (2010)

2. 学会発表

Naoko Kono, Yuichi Harada, Takato Odagiri, Masato Tashiro and Shigeyuki Itamura: Inter-laboratory reproducibility of single-radial-immunodiffusion assay for measuring HA content in the influenza vaccine during 9 year seasons from 2001 to 2009 in Japan. Options for the control of influenza VII, Hong Kong, Sept.3-7, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. その他 なし

プロジェクト4：ウイルス

風疹と CRS

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）

分担研究報告書

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

ラオス人民民主共和国ビエンチャン市における風疹抗体保有状況調査、並びに
風疹ウイルスゲノム検出用 LAMP 法の確立

研究分担者 駒瀬勝啓 国立感染症研究所・ウイルス第3部・室長
研究分担者 山本久美 国立感染症研究所・感染症情報センター・協力研究員
研究分担者 牛島廣治 藍野大学 藍野健康科学センター・教授
研究協力者 ペンサイ・マニライ WHO Lao Office

研究要旨 ラオスは東南アジアの最貧国のひとつであり、風疹に関する流行状況、罹患状況、先天性風疹症候群 (CRS) の発生状況等の情報はほとんどない。風疹は効果的なワクチンが存在するワクチン予防可能疾患 (VPD) であり、WHO も麻疹の排除とともに風疹の排除も目標に掲げている。本研究の目的はラオスの国立研究機関である National Center for laboratory and Epidemiology (NCLE)、WHO Lao Office と協力して ラオスの首都、ビエンチャン市における小学生 (6 才～12 才)、妊娠可能年齢女子 (15-35 才) の血中風疹抗体保有状況を調査し、風疹の流行状況、抗体保有状況を調査し、将来、風疹ワクチンの導入を検討する際の情報を示す事にある。2007 年に 411 名の小学生、2010 年には 784 名の妊娠可能年齢女子より血液を集め、風疹抗体価を測定した。小学生では 43.6%、15-35 才の女性では 83.2% が風疹抗体を保有しており、年齢とともに抗体保有率が上昇する傾向にあった。この事から風疹の流行は常にあり、また、ラオスで第 1 子を最も妊娠する年齢である 20-24 才でも約 20% の女性が風疹の感受性者である事が明らかになった。また、風疹の診断は他の発疹、発熱性の疾患と混同しやすく困難である。LAMP 法は特殊な機器が不要で 1 時間程度の反応で目視によって結果が判定できるという優れた特性をもつ遺伝子検出系である。従来あった LAMP 法では、東南アジアに多い Clade B のウイルスの検出が不可能であったが、新たに Clade A、B ともに検出可能な LAMP 法を開発した。この方法はラオスを含む東南アジアにおける風疹の診断に有用な方法であると思われた。

A. 研究目的

人口約 580 万人のラオスは、国民一人あたりの GDP 約 576 ドル (2007 年) の東南アジアの最貧国の一つである。感染症の予防として WHO が推進する EPI (Expanded Programme on Immunization) ワクチン (麻疹、ポリオ、BCG、破傷風、ジフテリア、百日咳、Hep B) の接種は行われているが、他のワクチンは

導入されていない。一方、WHO の西太平洋地域では 2012 年までに麻疹の排除を目指しており、ワクチンが存在し同じ発疹、発熱性の疾患である風疹の排除も視野にいれている。ラオスでは風疹ワクチンは未導入であり、また、風疹の流行状況、動態、国民の抗体保有状況等の正確な情報はない。風疹は主に子供が罹患する感染症だが、妊

娠初期の女性が感染すると高い頻度で先天性風疹症候群 (congenital rubella syndrome; CRS) と称される障害を持つ子供が生まれる事が知られている。本研究は、ラオス、ビエンチャン市における公立小学校の6歳から12歳の児童の風疹抗体保有状況、麻疹抗体保有状況、ならびに妊娠可能年齢女子の血中風疹抗体保有率を調査、把握することで、風疹の流行の状況を知り、将来導入を予定している風疹ワクチンの適切な使用法を検討するための情報を収集する事を目的としている。また、機器、施設等が不十分な東南アジアで流行するウイルスも検出できる様な、Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法を確立し、ラオス、並びにその周辺国での風疹診断技術の向上を図ることも目的としている。さらに、一連の調査、研究の過程を感染研、WHO がサポートしながら、ラオスの NCLE が主体となり実施する事で、将来におけるラオスの公衆衛生に中心的役割を果たしていく NCLE の Capacity building に寄与する事も本研究の目的としている。

B. 研究対象と方法

ラオスの首都ビエンチャン市の4つの公立小学校の6歳から12歳の児童を対象に、2007年12月から2008年3月間に411名から採血を行った。また、ビエンチャン市の4つの有力産院、Mother and Child Units of central hospitals in Vientiane Capital: Maternal and Child Hospital (MCH hospital)、Setteteritat Hospital、Mahosot hospital、Mittaphaph hospital に診察のために訪れた15-35才の女性から採血を実施した。抗体の測定は市販の酵素免疫測定法 (EIA, デンカ生研, 日本) を用い、使用説明書に従って風疹あるいは麻疹

の抗体価を測定した。EIA 価 は製造所のデータに従い、IU/ml に換算した。また風疹ウイルスのゲノム情報を収集し、保存性の高い部位から LAMP 法用のプライマーを設計し、様々なウイルスを用いて至適な反応条件を検討した。特に南アジア、中国南部、東南アジア等で流行している clade 2 の風疹ウイルスを検出できる LAMP 法の検討をおこなった。

倫理面への配慮について

本研究のラオスと日本国、両国の倫理委員会の承認を得て実施した。本人、あるいは保護者の同意を得た上で採血を実施した。検体は番号が付され、個人が特定できないようにした上で解析された。

C. 研究結果

1) 小学生における風疹抗体保有率、麻疹抗体保有率

合計411名の6歳から12歳の健康な小学生、(男子201名(48.9%),女子210名(51.1%))を対象として風疹抗体価、麻疹抗体価を測定した。風疹抗体陽性者は全体の43.6%であり、感受性者は56.4%であった(図1)。風疹抗体の血清濃度は9.55~304.99 IU/ml、平均値91.26 IU/ml (標準偏差114.77)であった。年少の7歳の子供における風疹抗体陽性率は28.2%と低いが、年齢と共に陽性率が増加する傾向があり、11歳でピークに達し58.5%となった。また麻疹抗体の陽性率、陰性率はそれぞれ411名(97.6%)、10名(2.4%)であった(図1)。麻疹抗体の血清濃度は0.18~5.84 IU/ml で平均値1.28 IU/ml (標準偏差1.30)であった。

2) 妊娠可能年齢女子における風疹抗体保有率

2010年10月25～29日、および2010年11月1日～5日に前記の4つの産院へ診察に来院し、同意が得られた15-35才の女性784名より採血を行った。採血された女性の年齢の内訳は15-19才:62名、20-24才:330名、25-29才:250名、30-35才:142名(平均25.1才)であった。15-35才の女性全体の風疹抗体保有率は83.2%であり、年齢別の抗体保有率は64.5%(15-19才)、80.6%(20-24才)、86.0%(25-29才)、92.3%(30-35才)であった(図2)。また過去に風疹ワクチンを接種した者はいなかった。陽性者の中の抗体価の分布は ≥ 100 IU; 31.9%, 100～80 IU; 10.8%, 80 IU～60 IU; 15.5%, 60 IU～40 IU; 17.7%, 40 IU～20 IU; 15.8%, 20 IU～10 IU; 8% であった。

3) Clade A, Bを検出できるLAMP法の確立
現在利用できる風疹ウイルスゲノムライブラリーからウイルスの遺伝子型にかかわらずゲノムを検出できるようなLAMPプライマーを設計し、様々な風疹ウイルスに対する条件を検討したところ、Clade A, Bのウイルスともに1-10 pfu/testの感度で検出できるLAMP法が確立できた(表1)。このLAMP法を用いて、最近のベトナムの風疹検体も検出が可能であった。

D. 考察

風疹は発熱、発疹を伴う、主に子供が罹患する比較的軽微な感染性疾患である。また、感染者の約30-50%は不顕性感染である。一方、妊娠初期の女性が風疹に罹患すると、高い頻度で聴力、視力、心臓等に障害をもつ先天性風疹症候群(CRS)の子供を出産する事が知られている。CRSの子供の生まれる頻度は風疹に感染する時期により異なっており、妊娠8週までに風疹に感染すると

約半数は何らかの障害をもつ子供を出産するといわれている。現在、WHOは麻疹の排除とともに、効果の高いワクチンが存在する風疹の排除も視野にいれているが、その目的は子供に罹患を防ぐ事ではなく、CRSの発生を防ぐ事としている。しかし、ラオスを含む多くの開発途上国では風疹、CRSの発生頻度、国民の抗体保有率等の情報はなく、また風疹ワクチンも導入されていない。一方、不適切な風疹ワクチンの導入によって風疹の流行が中途半端に減少し、風疹に暴露される機会がないまま成人し、免疫のない状態で妊娠した時に風疹が流行し、CRSが増加した先例が知られている。よって妊娠可能年齢の風疹に対する免疫状態を調査した上で、ワクチン接種対象者、スケジュール等を検討する様WHOも推奨している。われわれが実施した2度にわたる抗体保有状況の調査はクロスセクショナルスタディであるがラオスにおいて小学生、並びに妊娠可能年齢の女性の免疫状態を知るための初めての試みであり極めて重要な情報であると考えている。2007-2008年に実施した6～12才の小学生を対象とした血清疫学調査では43.6%が抗体を保有しており、また年齢によって抗体保有率が上昇していた。15-35才(平均25.1才)の妊娠可能年齢の女性では、83.2%が風疹抗体を保有していた。また15-19才では64.5%であったが、30-35才では92.3%と上昇していた。これら2つの研究は3年間の隔りがあるが同じ傾向がある事から、ラオスでは風疹ウイルスに暴露される可能性が常にあると考えられた。ラオスで最初の子供を妊娠する年齢相は20-24才でといわれており、この年齢の感受性者数は19.4%であった。また、15才-35才の間に抗体保有率が上昇していることから、風疹の流行期に妊娠が重なれば、

ある頻度で CRS を持つ子供は出生していると考えられた。

ラオスに於ける定期接種ワクチンである麻疹ワクチンの接種率は約 50%である。風疹ワクチンを導入、定期接種としても同様かそれ以下の水準になると予想される。CRS の発生率を下げるには 80%以上の接種率の維持が必要とされており、接種率をワクチン接種キャンペーンで補っている間は風疹ワクチンの導入は慎重にすべきだろう。また、麻疹・風疹混合ワクチンを用いるのか風疹単味ワクチンを用いるのかも検討を要する。一方、現在の風疹の流行状況、CRS の発生状況を把握できるシステムを構築する事がワクチン導入前に必要であると思われる。本研究班で開発した LAMP 法は 1) 等温で反応させるため特殊な機器が不要、2) 反応時間が 1 時間程度、3) 増幅効率が高い、4) ピロリン酸マグネシウムの添加で遺伝子の増幅が濁度で確認できるので、反応チューブを開放する必要がなく、実験室内のコタミの可能性が低い、等の特長があり、施設、機器が十分ではところで実施するウイルスゲノム検出による感染症診断の手法としては優れている。1-10 pfu/test の感度でウイルスの検出が可能であり、ラオス等の東南アジアでも利用可能と期待された。今回の血清疫学調査において、計画の作成、採血、検査、解析を NCLE が主体的に行い、感染研、WHO はサポート、アドバイスをを行った。今回のプロジェクトの成功はラオスの将来の公衆衛生面を検査面で担う NCLE の機能の向上に貢献し、本研究班の趣旨にそったものだったと考えられた。

E. 結論

ラオスにおいて小学生 (6-12 才)、妊娠可能年齢女子 (15 才-35 才) を対象に 2 回にわた

る風疹抗体保有調査を実施した。その結果、風疹は一定の頻度で流行しているようであり、妊娠可能年齢の女性の約 80%が抗体を保有していたが 15-20 才では 35.5%、最も妊娠する頻度の高い年齢である 20-24 才でも約 20%が感受性者であり、風疹の流行と妊娠の時期が重なれば CRS の発生はおこると考えられた。一方、不十分なワクチン接種は CRS 発生リスクを増加させる可能性があることから、慎重に実施するとともに、風疹の症例数、CRS の症例数の把握できる体制の構築が重要と思われた。その診断の手段として様々な遺伝子型の風疹ウイルスゲノムの検出が可能で LAMP 法を確立した。この方法は開発途上国等の環境が整っていないところでの症例の診断に有効な技術となる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Otsuki N, Abo H, Kubota T, Mori Y, Umino Y, Okamoto K, Takeda M, Komase K. Elucidation of the full genetic information of Japanese rubella vaccines and the genetic changes associated with in vitro and in vivo vaccine virus phenotypes. *Vaccine*. (2011) Jan 18. [Epub ahead of print]
2. Xin JY, Ihara T, Komase K, Nakayama T. *Intervirology*. Amino Acid Substitutions in Matrix, Fusion and Hemagglutinin Proteins of Wild Measles Virus for Adaptation to Vero

- Cells (2011) Jan 13. [Epub ahead of print]
3. Sawada A, Komase K, Nakayama T. Vaccine. AIK-C measles vaccine expressing fusion protein of respiratory syncytial virus induces protective antibodies in cotton rats (2011) Feb 4;29 (7) :1481-90. Epub 2010 Dec 24
 4. Tran, D. N., Vu, M. P., Ha, M. T., Giang, T. P. L., Komase, K., Mizuguchi M, Ushijima H. Viral molecular characterization of the first congenital Rubella syndrome case in Vietnam. Clin. Lab. (in press).
 5. Phengxay M., Hayakawa Y., Phan, T. G., Tanaka-Taya, K., Ueno - Yamamoto, K., Phengta Vongphrachanh, Komase, K., Hiroshi Ushijima. Seroprevalence of rubella and measles virus antibody in Lao PDR. Clin. Lab. (in press)
 6. Suzuki J, Goto H, Komase K, Abo H, Fujii K, Otsuki N, Okamoto K. Rubella virus as a possible etiological agent of Fuchs heterochromic iridocyclitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. (2010) 248:1487-91.
 7. 駒瀬勝啓 日本の麻疹・風疹の現状と問題点 総合臨床 永井書店 59:435-440 (2010)
 8. 駒瀬勝啓 ワクチンを考える上で必要な臨床検査の知識 -抗体および抗体検査の意義を問題点- 臨床検査 医学書院 54(11) : 1230-1238 (2010)
 9. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹の検査診断法と全数検査診断に向けた取り組み 小児科 51: 1311-1318 (2010)
 10. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹風疹実験室ネットワーク 臨床検査 医学書院 54(11) : 1322-1327 (2010)
 11. 駒瀬勝啓 抗原抗体反応 (抗原測定、抗体測定) 臨床と微生物 近代出版 37(5) : 411-416 (2010)
 12. Dong JB, Saito A, Mine Y, Sakuraba Y, Nibe K, Goto Y, Komase K, Nakayama T, Miyata H, Iwata H, Haga T. Adaptation of wild-type measles virus to cotton rat lung cells: E89K mutation in matrix protein contributes to its fitness. Adaptation of wild-type measles virus to cotton rat lung cells: E89K mutation in matrix protein contributes to its fitness. Virus Genes. (2009) 39 (3) ; 330-34.
 13. Ninomiya K, Kanayama T, Fujieda N, Nakayama T, Komase K, Nagata K, Takeuchi K. Amino acid substitution at position 464 in the haemagglutinin -neuraminidase protein of a mumps virus Urabe strain enhanced the virus growth in neuroblastoma SH-SY5Y cells. Vaccine. (2009) 27:6160-5.
 14. Kato S, Ohgimoto S, Sharma LB, Kurazono S, Ayata M, Komase K, Takeda M, Takeuchi K, Ihara T, Ogura H. Reduced ability of hemagglutinin of the CAM-70 measles virus vaccine strain to use receptors CD46 and SLAM. Vaccine. (2009) 27:3838-48.
 15. Sakata, M., Komase, K., and Nakayama, T. Histidine at position 1042 of the

- p150 region of a KRT live attenuated rubella vaccine strain is responsible for the temperature sensitivity. *Vaccine* (2009) 7:27 (2): 234-42.
16. 駒瀬勝啓、風疹ワクチンの効果と再感染、*臨床とウイルス*、2008, 36(1) : 32-38.
 17. 駒瀬裕子、駒瀬勝啓、インフルエンザ、*Medical Practice* 2008, 25(5) : 787-793.
2. 学会発表
1. 關 文緒、染谷 健二、田原 舞乃、中津 祐一郎、駒瀬 勝啓、竹田 誠、麻疹ウイルス H タンパク質アミノ酸 546 番目のグリシン変異における上皮細胞への感染性および機能変化、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 2. 扇本 真治、Bhatta Luna、加藤 誠一、綾田 稔、駒瀬 勝啓、竹内 薫、庵原 俊昭、小倉 壽、麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C、FF-8、CAM-70 の効率的なウイルス RNA 合成と AIK-C P 蛋白による感染性ウイルス産生の抑制、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 3. 田原 舞乃、駒瀬 勝啓、染谷 健二、關 文緒、中津 祐一郎、藤井 薫、柳 雄介、竹田 誠、麻疹ウイルス主要表面抗原 H タンパク質の抗原性変化、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 4. 大槻 紀之、阿保 均、久保田 耐、森 嘉生、海野 幸子、岡本 貴世子、竹田 誠、駒瀬 勝啓、風疹ウイルスによるモルモットでの抗体誘導は温度感受性と一致するわけではない、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 5. 岡本 貴世子、阿保 均、大槻 紀之、森 嘉生、竹田 誠、駒瀬 勝啓、風疹ウイルス遺伝子検出による実験室診断技術の改良、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 6. 中津 祐一郎、鈴木 忠樹、馬 学旻、關 文緒、駒瀬 勝啓、柳 雄介、竹田 誠、イメージング技術を用いた麻疹ウイルス L タンパク質の細胞内動態の解析、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 7. 木所 稔、駒瀬 勝啓、Tuul Renchin、モンゴル国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 8. 澤田 成史、駒瀬 勝啓、中山 哲夫、RS ウイルス外殻タンパクを発現するキメラ麻疹ウイルスの免疫能の検討、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
 9. 澤田 成史、駒瀬 勝啓、中山 哲夫、RS ウイルスの外殻タンパクを発現するキメラ麻疹ウイルスの免疫原性の検討、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
 10. 田原 舞乃、駒瀬 勝啓、染谷 健二、

- 関 文緒、中津 祐一郎、藤井 薫、柳 雄介、竹田 誠、麻疹ウイルスの抗原性変化、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
11. 扇本 真治、伊藤 千慧、Bhatta Luna、加藤 誠一、綾田 稔、駒瀬 勝啓、竹内 薫、庵原 俊昭、小倉 壽、麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C、FF-8、CAM-70 の効率的なウイルス RNA 合成と AIK-C P 蛋白による感染性ウイルス産生の抑制、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
 12. 大槻 紀之、阿保 均、久保田 耐、森 嘉生、海野 幸子、岡本 貴世子、竹田 誠、駒瀬 勝啓、T0-336 麻疹ワクチン株及びその関連株における温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能の比較、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
 13. 阿保 均、森 嘉生、岡本 貴世子、大槻 紀之、竹田 誠、駒瀬 勝啓、麻疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法の改良、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
 14. 木所 稔、駒瀬 勝啓、Tuul Renchin、東アジアで流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
 15. 駒瀬勝啓、大槻紀之、フックス虹彩萎縮性虹彩毛様体炎患者から検出された麻疹ウイルスゲノムの解析、第 50 回日本臨床ウイルス学会 高知、平成 21 年 6 月
 16. 麻疹ウイルス、野生株が温度感受性を獲得する必要条件、第 57 回日本ウイルス学会学術集会 東京 2009 年 10 月
 17. 岡本貴世子、大槻紀之、駒瀬勝啓、麻疹ウイルス遺伝子検出 Real time PCR 法の作製、第 57 回日本ウイルス学会学術集会 東京 2009 年 10 月
 18. 大槻紀之、田代真人、駒瀬勝啓、clade の異なる麻疹ウイルスに対する人血清中の中和活性の比較、第 49 回日本臨床ウイルス学会、2008. 6. 14、犬山
 19. 鈴木潤、駒瀬勝啓、後藤浩、第 62 回日本臨床眼科学会、2008. 10. 23-26、東京
 20. Phengxay M, Komase K, Tanaka-Takya K, Ueno-Yamamoto K, Phengta V, Ushijima H. ラオス人民民主共和国ビエンチャン市の小学校における麻疹および麻疹抗体保有率 第 23 回日本国際保健医療学会学術集会 2008. 10. 25-26、国立国際医療センター 東京
 21. 加藤誠一、扇本真治、Luna Batta Sharma、綾田稔、竹田誠、竹内薫、駒瀬勝啓、庵原俊昭、小倉壽、麻疹ウイルスワクチン株 CAM-70 H 蛋白の CD46 と SLAM の利用能は低い、第 56 回日本ウイルス学会学術集会、2008. 10. 26-28、岡山
 22. 関文緒、山田健太郎、染谷健二、駒瀬勝啓、田代真人、SSPE ウイルス SI 株のリバースジェネティクス系の構築、第 56 回日本ウイルス学会学術集会、2008. 10. 26-28、岡山
 23. 竹内薫、藤枝奈緒、中山哲夫、駒瀬勝啓、永田恭介、神経芽腫細胞 (SH-SY5Y)

- におけるムンプスウイルス増殖に重要な領域の同定、第56回日本ウイルス学会学術集会、2008. 10. 26-28、岡山
24. Yi Xin Ji、駒瀬勝啓、庵原俊昭、中山哲夫、Amino acid substitutions in matrix (M), fusion (F) and hemagglutinin (H) proteins of wild measles virus for adaptation to Vero cells、第56回日本ウイルス学会学術集会、2008. 10. 26-28、岡山
25. 佐藤弘、多屋馨子、駒瀬勝啓、田代真人、岡部信彦、わが国における麻疹および風疹に対する抗体保有状況(2007年度感染症流行予測調査事業より)、第12回日本ワクチン学会学術集会、2008. 11. 8-9、熊本
26. 樋口彰、駒瀬勝啓、中山哲夫、風疹、ムンプスウイルスの envelope 蛋白を発現する組換え麻疹ワクチン株の作製、第12回日本ワクチン学会学術集会、2008. 11. 8-9、熊本
27. 澤田成史、駒瀬勝啓、中山哲夫、RSウイルス、インフルエンザウイルスの外殻タンパク質を発現するキメラ麻疹ウイルスの作製、第12回日本ワクチン学会学術集会、2008. 11. 8-9、熊本
3. シンポジウム、講演等
1. 駒瀬勝啓 麻疹排除にむけた WHO の取り組みと日本の麻疹サーベイランス体制について、シンポジウム麻疹 衛生微生物技術協議会第30回研究会 境市 平成21年7月9日~10日
2. 駒瀬勝啓、麻疹排除の現状と麻疹サーベイランス体制について、地衛研フォーラム、麻疹排除(2012年)計画に向けた保健所、地衛研、感染研の果たす役割、第68回日本公衆衛生学会総会 奈良 平成21年10月
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
2. その他 なし

表 1. 新規 LAMP 法の感度の比較

LAMP法(新規法と従来法)ならびにRT-PCR法の感度の比較

ウイルス株 (遺伝子型)	LAMP法		RT-PCR (E1領域)	
	新規法	従来法 (Mori et al)	1st PCR	Nested PCR
To-336 (1a)	1	0.1	0.1	0.1
BRD2 (2A)	1	10	-	10
Osaka' 07 (2B)	1	-	10	10

pfu/test

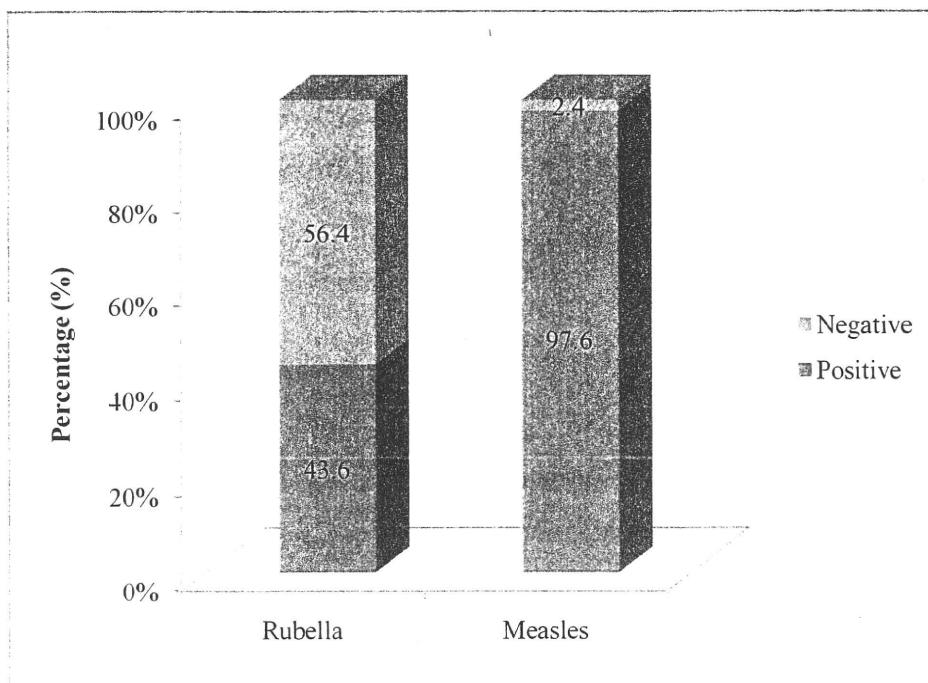


図 1. ラオス、ピエンチャン市の小学生における風疹、麻疹の抗体保有率

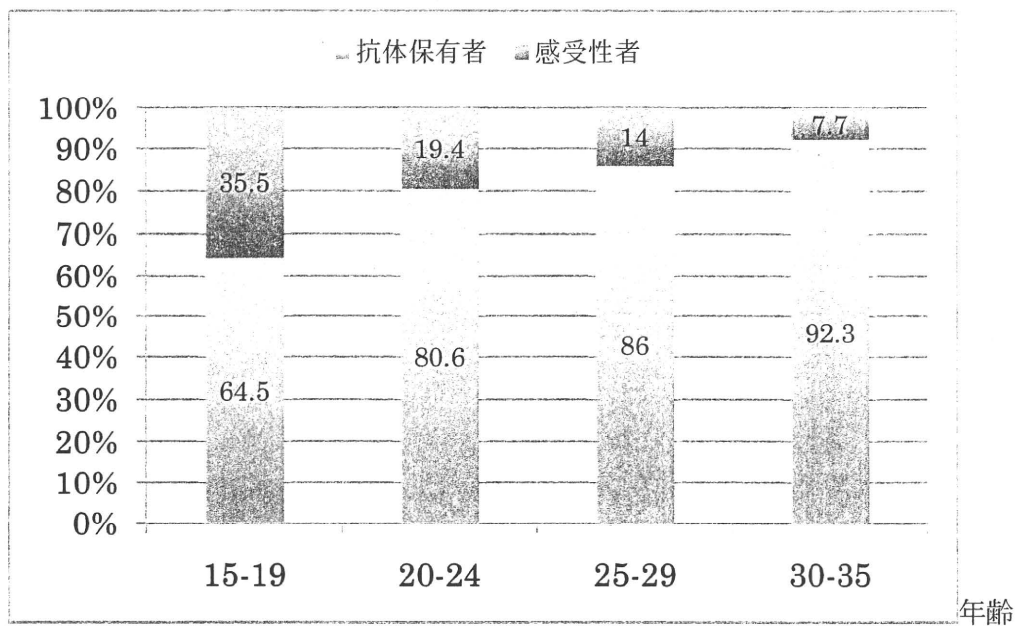


図 2. ラオス、ビエンチャン市の妊娠可能年齢女子(15 才～35 才)における風疹の抗体保有率と感受性者率