

- 地域保健総合推進事業) (公衆衛生協会) 2004.
- 7) Y. Sasazawa, T. Kawada, Y. Kiryu, S. Suzuki. The Relationship between traffic noise and insomnia among adult Japanese women. *Journal of Sound and Vibration* 277: 547-557, 2004.
 - 8) 桐生康生. RM-ODP を用いた保健所参照情報モデルの開発. *厚生指標* 50(15): 1-7, 2003.
 - 9) 桐生康生. Web サービスを用いた診療支援システムの構築に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金医療技術評価総合研究事業「日本における EBM のためのデータベース構築及び提供利用に関する調査研究」(丹後俊郎編) 245-262, 2003.
 - 10) 桐生康生. 診療支援システムのあり方に関する研究. 厚生科学研究費補助金(21世紀型医療開拓推進研究事業)「日本における EBM のためのデータベース構築および提供利用に関する調査研究」(丹後俊郎編) 64-68, 2002.
 - 11) 桐生康生. 「健康日本 21」地方計画の数値目標策定プロセスに関する調査研究. 平成 13 年度地域保健総合推進事業『「健康日本 21」地方計画の体系的数値目標の設定に関する研究』(小野喜志雄編) 25-28, 2002.
 - 12) 桐生康生. ICIDH の改訂に関する諸外国の動向調査研究. 厚生科学研究費補助金障害保健福祉総合研究事業「国際障害分類の改訂作業に伴う諸制度との関係及び諸外国の動向調査研究」7-8, 2002.
 - 13) 桐生康生. ICF の情報システムへの応用に関する研究. 厚生科学研究費補助金障害保健福祉総合研究事業「国際障害分類の改訂作業に伴う諸制度との関係及び諸外国の動向調査研究」30-33, 2002.
 - 14) Yukio Takizawa, Noriyuki Hachiya, Yasuo Kiryu. Analytical Methods for Mercury Compounds Understanding of Minamata disease. 142-154, in “Methylmercury Poisoning in Minamata and Niigata” (Yukio Takizawa, Mitsuhiro Osame ed.), (Tokyo, Japan.), 2001.
 - 15) Akira Tanaka, Yoshihide Nagase, Yasuo Kiryu, Kanji Nakai. Applying ODP Enterprise Viewpoint Language to Hospital Information Systems. 188-192, In Proceedings of the Fifth IEEE International Enterprise Distributed Object Computing Conference (Seattle, USA), 2001.
 - 16) 桐生康生、谷口隆. 保健医療分野における標準化プロジェクト. *Innervision* 15(7): 92-94, 2000.
 - 17) 川田智之、桐生康生、鈴木庄亮. 騒音の睡眠に及ぼす終夜影響と即時的影響 —主観的睡眠感と客観的睡眠指標を用いた検討—. 220-224, *交通安全と健康* —第 2 回日中国際会議論文集一, 1998.
 - 18) Tomoyuki Kawada, Yasuo Kiryu, Yosiaki Sasazawa, Shosuke Suzuki. Instantaneous Change in Transient Shift of Sleep Stage in Response to Passing Truck Noise. *Environmental Health and Preventive Medicine* 3(1): 1-5, 1998.
 - 19) KIRYU Yasuo. Minamata Disease: Experience of methylmercury poisoning in Japan. 84-91, Proceedings of the International Workshop on “The Fate of Mercury in Gold Mining and Measures to Control the Environmental Pollution in Various Countries” National Institute for Minamata Disease, Japan and Faculty of Public Health, University of Indonesia. Japan Public Health Association (Minamata, Japan), 1996.
 - 20) Tomoyuki Kawada, Kiryu Yasuo, Sasazawa Yosiaki, Shosuke Suzuki. Prevalence of Insomnia and its Relationship to the Health Habits or Status of Women Living along a City Road Part 1. Epidemiologic Study. *Environmental Health and Preventive Medicine* 1(4): 211-215, 1997.
 - 21) Agustiah Tri-Tugaswati, Yasuo Kiryu. Effect of Air Pollution on Respiratory Symptoms of Junior High School Students in Indonesia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 27(4):

- 792-800, 1996
- 22) Watanabe M, Abe K, Aoki M, Yasuo K, Itoyama Y, Shoji M, Ikeda Y, Iizuka T, Ikeda M, Shizuka M, Mizushima K, Hirai S. Mitotic and meiotic stability of the CAG repeat in the X-linked spinal and bulbar muscular atrophy gene. *Clinical Genetics* 50: 133-137, 1996.
- 23) 鈴木庄亮、桐生康生. 論文のまとめ方 第8回 MEDLINE とその検索方法 ―MeSH を中心に―. *産業衛生学雑誌* 38: A37-A40, 1996.
- 24) Yasuo Kiryu, A. Tri-Tugaswati, Shosuke Suzuki, Tomoyuki Kawada. Effects on Health of Atmospheric Lead in Roadside Exposure in Jakarta. *Environmental Health and Preventive Medicine* 1(1): 9-13, 1996.
- 25) 桐生康生、桐生充子. 臨床治験についての方法論的考察 第1報 科学における、方法論の位置付け. *北関東医学* 45(5): 427-428, 1995.
- 26) Agustiah Tri-Tugaswati, Shosuke Suzuki, Yasuo Kiryu, Tomoyuki Kawada. Automotive Air Pollution in Jakarta with Special Emphasis on Lead, Particulate, and Nitrogen Dioxide. *民族衛生* 61(5): 261-275, 1995.
- 27) 鈴木庄亮、桐生康生、笹澤吉明、長沼誠一、川田智之. 騒音の睡眠への影響(I) ―脳波による観察―. *日本睡眠環境学会* 3(1): 35-39, 1995.
- 28) Kiryu Y., A. Tri-Tugaswati, S. Suzuki, T. Kawada. Health Effects of atmospheric lead in roadside exposure in Jakarta. 11, Second Japan-China symposium on Traffic Safety and Health, (Tokyo, Japan), 1995.
- 29) Kawada Tomoyuki, Agustiah Tri-Tugaswati, Kiryu Yasuo, Suzuki Shosuke. Relationship between Mean Lead Levels in the Atmosphere and Blood as Reported since 1977: Data on Gasoline with Time, in Japan. *Environmental and Occupational Chemical Hazards* (2), 93-98, Proceedings of Second Asia-Pacific Symposium on Environmental Occupational Health (Kobe University, National University of Singapore), (Kobe, Japan), 1994.
- 30) A. Tri-Tugaswati, Kiryu Yasuo, Shosuke Suzuki. Relationship between Mean Lead Levels in the Atmosphere and in Blood from Data Published since 1997. *Asia-Pacific Journal of Public Health* 7(4): 233-235, 1994.
- 31) 桐生康生、鈴木庄亮、細貝浩章、田村静夫. 突然死の危険因子に関する症例対照研究 某大企業の健康管理記録による44症例から. *産業医学* 36(1): 16-23, 1994.
- 32) Norio Mitsuhashi, Hideo Niibe, Kazushige Hayakawa, Yoshio Tamaki, Mitsuhiro Takahashi, Michitaka Yamakawa, Iwao Hashida, Tetsuo Akimoto, Yasuo Kiryu. Prognostic Factors of Poorly-differentiated Squamous Cell Carcinoma of the Nasopharynx. *Japanese Journal of Oncology* 24(4): 191-198, 1994.
- 33) 桐生康生. 英語優先の方針に反対する. *産業医学* 36: A42, 1994.
- 34) 桐生康生、鈴木庄亮. 学術論文の著者名の国際的な表記方法の提案. *民族衛生* 60(2): 110-116, 1994.
- 35) 新部英男、桐生康生. 今日の放射線治療成績―群馬大学放射線科―. 247-251, *がんへの挑戦 ―医師・看護婦・放射線技師の立場から―* (新部英男、三橋紀夫編) (前橋) 1993.
- 36) 川田智之、桐生康生、青木繁伸、鈴木庄亮. トラック通過音の繰り返し低レベル曝露による終夜睡眠脳波の変化. *日本衛生学雑誌* 48(5): 932-938, 1993.
- 37) 川田智之、長沼誠一、桐生康生、鈴木庄亮. 騒音の睡眠に及ぼす影響 ―トラック通過音の繰り返し曝露による終夜睡眠脳波の変化―. *日本衛生学雑誌* 47(3): 715-722, 1992.

- 38) Tomoyuki Kawada, Yasuo Kiryu, Shigenobu Aoki, Shosuke Suzuki. Validity of Electrode Placement at Fpz to Detect Alpha Wave. Japanese Journal of Psychiatry and Neurology 46(4): 937-940, 1992.
- 39) Tomoyuki Kawada, Yasuo Kiryu, Seiichi Naganuma, Shigenobu Aoki, Shosuke Suzuki. Effect of the Continuity and Sampling Rate of Polygraphy Data on Sleep Stage by a Computerized Scoring System -A Reliability Study-. Japanese Journal of Hygiene 47(4): 826-830, 1992.
- 40) Masatoshi Hasegawa, Hideo Niibe, Michitaka Yamakawa, Shingo Kato, Masaya Furuta, Yasuo Kiryu, Jun Ito, Yukihiro Nakanishi, Yoichi Nakazato. Morphological Changes of Irradiated Human Gliomas in Nude Mice. Brain Tumor Pathology 8: 223-225, 1991.
- 41) 桐生康生、高橋満弘、早川和重、山川通隆、加藤真吾、新部英男. 肺癌放射線治療後8年経過して食道癌の発症をみた症例. 日本医事新報 3493: 79-80, 1991.

・平成23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

平成23年度指定研究（課題名未定）を申請予定

H20-新興-指定-019

新興・再興感染症研究事業の 企画及び評価に関する研究

研究代表者 桐生康生
(国立感染症研究所 企画調整主幹)

発表の流れ

- 本研究（事業）の概要
- 個別の研究事業内容
 - 班会議への参加と報告
 - 研究成果発表会開催
 - 評価支援システムの開発
 - 研究班間の連携強化
 - 疫学研究デザインの整理

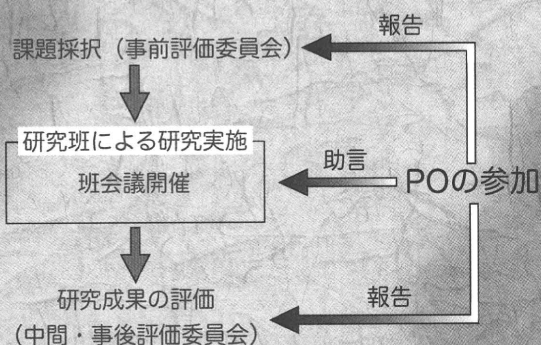
実施体制

- 研究代表者
 - 北島智子 (国立感染症研究所) (H20年7月まで)
 - 藤井紀男 (国立感染症研究所) (H22年7月まで)
 - 桐生康生
- 研究分担者 (H22年度)
 - 谷伸悦 (国立感染症研究所) (H22年7月まで)
 - 影山努 (国立感染症研究所)
 - 東敏昭 (産業医科大学)

目的

- 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業の適切かつ円滑な実施と総合的な推進を図る
- 研究の企画・評価の実施支援
- 関連研究に関する情報収集

研究事業の企画と評価の概要



PO (研究協力者)

- 神田忠仁 (理化学研究所)
- 内山竹彦 (常磐大学)
- 脇田隆宇 (国立感染症研究所)
- 森亨 (結核研究所)

班会議参加

- Program Officer (PO) が班会議に参加
- 研究班に助言
- 評価委員へ報告
- 実績
 - 平成20年度 27班40班会議
 - 平成21年度 31班57班会議

研究成果発表会

- 各研究班が成果を発表
- 評価委員が評価

成果概要
PO報告

評価支援システムの開発

- Webを用いてインターネットで評価するシステム
- 評価用資料の印刷・送付の業務改善を目的

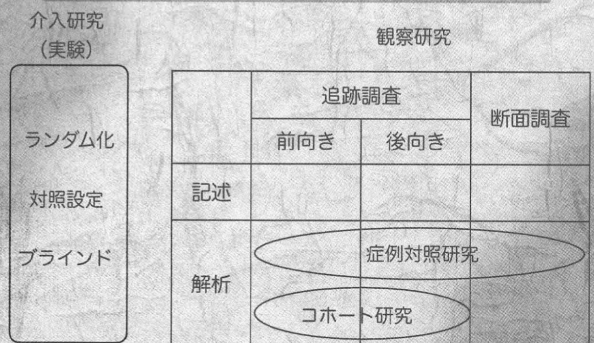
評価支援システム



研究班間の連携強化

- 結核研究班会議間の連携強化
- 他班へ研究分担者として参加
- 相互の班会議へ参加
- 厚労省の結核対策との連携強化

疫学研究デザインの整理



用語上の混乱

- 前向き／後向き (prospective v.s. retrospective)
- コホート調査／症例対照研究
- 原因側（説明変数）と結果側（目的変数）の時間的関係
- データの入手時点 (propective v.s. retrolective)
- 実験
 - 実験（介入研究）デザインに基づく研究
 - 実験室研究

まとめ

- 本研究班は、新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業を適切かつ円滑に実施するために指定
- POが班会議に参加し、助言するとともに、その結果を評価委員へ報告
- 評価委員会前に成果発表会を開催し、研究内容をより良く把握し、適切に評価

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 成果概要

研究課題：細胞培養系を用いた新型インフルエンザワクチンの開発研究課題番号：H21-新興-指定-001予定期間：H21 年度から H22 年度まで研究代表者：田代 真人所属研究機関：国立感染症研究所村山庁舎所属部局：インフルエンザウイルス研究センター職名：センター長

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 410,000,000 2 年目 410,000,000 円計 820,000,000 円**I. 研究の意義**

- (1) ウイルス増殖の器質に組織培養細胞を用いることによって、現行の鶏卵と比較して短期間に大量に細胞を準備できるため、設備規模に応じて何時でも安定して大量のワクチンウイルスを増殖させることが可能。従って、パンデミック時の緊急事態に対応可能。
- (2) ワクチン製造の原株となるヒト分離ウイルスは発育鶏卵と比較して哺乳類細胞で効率よく増殖し易い。
- (3) 発育鶏卵への馴化が不要であるので、馴化過程でのウイルスの遺伝子変異や抗原変異が起こらず、高い有効性が期待でき、抗原性、安全性の安定確保が容易。
- (4) 欧米と比較して、国内では組織培養ワクチンの開発研究は大幅に遅れており、国内ワクチンメーカーは新型インフルエンザ出現時にワクチン大量製造の緊急対応ができない状態を改善。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 日本国内での組織培養ワクチン製造体制を確立し、新型インフルエンザ出現に際して 6 ヶ月以内に国民全員への新型インフルエンザワクチン供給体制を整備することを目的とする。
- (2) 5 年以内に国内での組織培養インフルエンザワクチン実用化を目指す。本研究ではその前 2 年間に担当し、国内ワクチンメーカー等と共同で候補製剤の非臨床試験までを終了する。
- (3) 海外メーカーの開発状況等の情報収集を行なうと共に、本プロジェクトに適切な外部評価委員会を設置し、国内共同研究メーカーの計画遂行を調整。これによってプロジェクトの進捗を加速できることが期待できる。
- (4) 新型インフルエンザ緊急対応計画を確立する上で重要な基盤整備が期待される。
- (5) 我が国の技術レベルとワクチン政策が欧米諸国と同水準以上になることが期待される。

III. 2 年間の研究成果

・ 研究代表者 (田代真人)

- (1) 研究班として組織培養ワクチン実用化に必要な非臨床試験を着実に進め、平成 22 年度内に終了

できる見通しが立った。これにより臨床試験へ進むための基盤を整えることが出来、組織培養ワクチン実用化へ向けて大きく前進した。

・研究分担者(山本典生)

(1) 海外の既存ガイドライン等を精査し、非臨床・臨床試験において各班員で共通して考慮すべき要点を Points to consider としてまとめた。これを研究班内で共有することにより、実用化プロセスの促進を図った。

(2) ドイツ Novartis 社、オランダ CruCell 社と共同研究契約を締結。細胞株適性評価実施中。

・研究分担者(奥野良信)

(1) 製造用 MDCK 細胞の安全性試験を実施。微生物の交叉汚染、染色体損傷、迷入ウイルス並びに癌原性を否定。

(2) 5 種類の新型シードウイルス (H5N1) 株について増殖性を解析し、良好な成績を取得。細胞への馴化を行なうことで、更なる増殖性増大と遺伝的性質の保持を確認。

(3) GMP 条件下で新型インフルエンザウイルスのシードロットを作製。各種の規格試験項目と規格値を設け、すべてのロットが規格に適合することを確認。

(4) 500L のパイロットスケール細胞培養法を確立し、ウイルス増殖、精製法を確立。

(5) WHO ガイドラインの混入宿主 DNA 量の規格 (<10ng/dose) に適合。

(6) GLP 試験用試作ワクチンを製造し、規格試験を実施中。非臨床試験は本年度内に開始予定。

(7) 実生産スケール製造設備を設計中。H23 年度中に製造実験実施予定。

・研究分担者(五反田亨)

(1) 製造用 MDCK 細胞の無血清培地とマイクロキャリアを用いた高密度培養法を確立。

(2) ワクチンシード候補株を用いたウイルスの培養法及びワクチンの製法を確立。

(3) 動物試験を含め、MDCK 細胞培養新型インフルエンザワクチンの規格試験法を確立。

(4) マウスを用いた免疫原性試験およびワクチンの規格試験から新型インフルエンザワクチンの剤型を確立。

(5) 確定した製法および剤型で、MDCK 細胞培養新型インフルエンザの試作ワクチン 3 ロットを製造。

(6) 試作ワクチンは何れも規格に適合。安定性試験並びに非臨床試験を実施中。

・研究分担者(上村謙吾)

(1) 2 種の H5N1 株について、HA 発現細胞培養法及び HA 精製行程を確立。

(2) 2 種の H5N1 株について、組み換えバキュロウイルスの構築に成功。

(3) ワクチン力価測定のための SRD 法に関して、自家標準物質及び抗血清を設定。測定法を確立。

(4) 精製ウイルスと比較して組換え体 HA をワクチンとして用いる上での問題点のうち、HA の開裂と糖鎖修飾の差異が免疫原性に及ぼす影響を評価し、影響が無いことを確認。

・研究分担者(野崎周英)

(1) ワクチン製造用細胞基材 EB66 の MCB 及び EPC について、細胞特性試験、細胞安全性試験を終了。

(2) マスターシードウイルスを調製し、遺伝的安定性を確認。ワーキングシードを現在調製中。

(3) 45L スケールで培養したウイルスにて事業化目標値を上回る治験薬製造法を確立。

(4) 候補ワクチンの安定性評価を行い、結果は良好。現在有効期間設定を目的とした予備安定性試験を実施中。

- (5) 原薬及び製剤の品質試験項目を設定。各試験法の妥当性を確認。
- (6) 薬効試験、薬理試験及び毒性試験を行い、非臨床試験データを取得。問題所見無し。
- (7) パイロットプラントにおいて非臨床薬製法と同一製法にて治験原薬製造を完了。WHO ガイドライン上の混入宿主 DNA 量の規格 (<10ng/dose) にも適合。
- (8) 600L スケールの治験薬製造プラント整備を開始。本年度中に 1200L スケールのプラントの整備も完了し、H23 年度には試験製造開始予定。実生産設備として 3000-6000L 規模を想定し、基本設計・実施設計を開始。

- (9) ワクチン製造用株以外の 3 つの H5N1 株について生産性、抗原性評価を実施し、十分な生産レベルを達成すると共に、2 株の抗原的安定性を確認。残り 1 株については現在解析中。

・ 研究分担者(大塚浩史)

- (1) 製造用 MDCK 細胞の調製を完了。170L スケールの培養法確立。
- (2) 細胞の特性試験、安全性試験、造腫瘍性試験及びがん原性試験を実施。問題所見無し。
- (3) ウイルス培養工程ならびに精製工程を確立。また、アルミアジュバントの特性評価結果からタンパク高吸着性のアルミアジュバント含有製剤化工程を確立。
- (4) ワクチン原液及び製剤の規格試験項目を設定、試験実施。いずれも品質目標を達成。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 本研究成果を基にした組織培養ワクチン非臨床・臨床試験項目等のガイドライン化。
- (2) 組織培養ワクチン実用化に向けた臨床試験の実施及び製造承認申請。
- (3) ワクチン力価試験等、ワクチン品質管理法の確立。
- (4) パイロットスケールでのワクチン製造から、実生産規模へのスケールアップ。

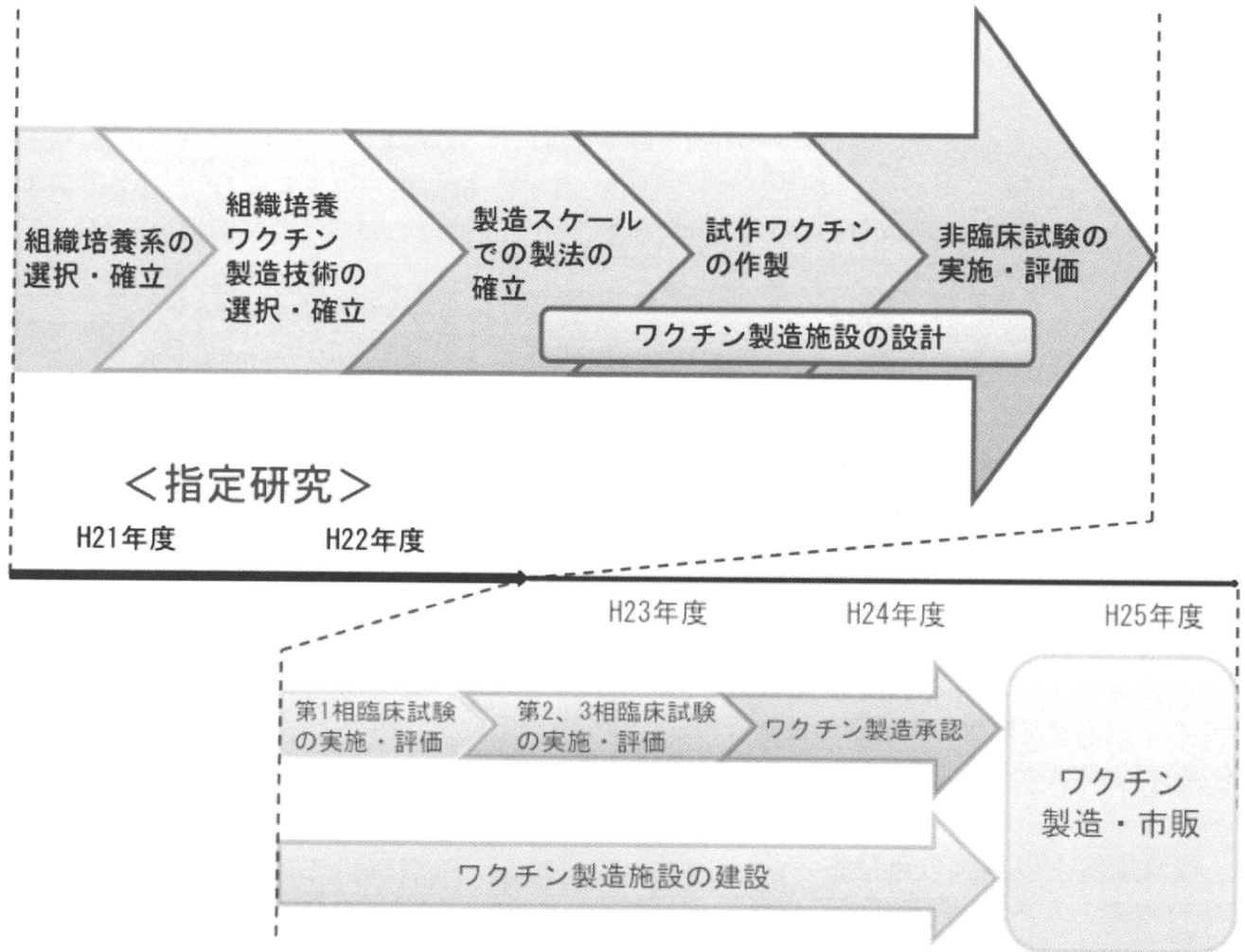
V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 現行のワクチン製造体制の限界を克服し、新型インフルエンザ緊急対応の基盤が確立できる。その結果、健康被害と社会的影響を大幅に減少させることが可能となる。
- (2) WHO では発育鶏卵を一切用いないワクチン政策の確立、導入を目指しているが、我が国でもそれに応じて技術レベルとワクチン政策が国際的に遅れを取らないように対応できる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) 指定研究研究班、細胞培養インフルエンザワクチンの安全性に関する Points to Consider
- (2) 山本典生、田代真人：総論 インフルエンザ～研究から臨床まで～ 細胞 Vol.41, No. 14, 2009
- (3) 山本典生、田代真人：国立感染所研究所インフルエンザウイルス研究センターの紹介 医学のあゆみ, 223 巻, 13 号, 2010
- (4) 山本典生、中村一哉、浜本いつき、田代真人：パンデミックインフルエンザ (H1N1) 2009 に対するワクチンの評価と新ワクチン開発に向けた展望 公衆衛生, Vol.74, No. 8, 2010
- (5) 上村謙吾, 中村正, 八木良樹, 二宮康行, 組換えインフルエンザワクチン UMN-0501 の開発, 細胞, 41 (14): 38-41, 2009

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1969-1977 東北大学医学部医学科
 1977-1984 山形大学医学部細菌学講座助手
 1984-1987 ドイツ・ギーセン大学ウイルス学研究所研究員
 1987-1993 自治医科大学医学部ウイルス学講座助教授
 1993-1997 国立予防衛生研究所ウイルス第1部長
 1997-2001 国立予防衛生研究所ウイルス製剤部長
 2001- 国立感染症研究所ウイルス第3部長、
 2001- WHO インフルエンザ協力センター長
 2003- WHOSARS 研究ネットワーク
 2004- WHO 麻疹風疹世界特別研究施設長、
 2004- WHOH5 インフルエンザ診断研究ネットワーク

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

東北大学/山形大学/神戸大学医学部教授:石田名香雄、本間守男
 ギーセン大学教授:Rudolf Rott, Hans-Dieter Klenk, Christoph Scholtissek
 カリフォルニア大学ロサンゼルス校:Joseph T. Seto
 英国国立医学研究所長:Alan Hey, John Skehel
 ケンブリッジ大学/ロッテルダム大学教授:Abraham Osterhaus, Derek Smith, Collins Russell
 米国 CDC:Nancy Cox
 香港大学医学部教授:Marik Peiris

・主な研究課題

パラミクソウイルスの構造と病原性発現機序の分子基盤
 麻疹ウイルスの分子病理学、分子病態機構および麻疹ワクチンの有効性と安全性に関する科学的基盤
 インフルエンザウイルスの病原性発現の分子機構・インフルエンザの分子疫学および流行疫学
 インフルエンザの感染防御免疫およびワクチンの開発研究・新型インフルエンザ対策の科学的基盤

・これまでの研究実績

Ainai, A., Hasegawa, H., Tamura, S., Tashiro, M.:Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal vaccine with a TLR3-mucosal adjuvant. Human Vaccines (2011, in press)

Ichinohe,T., Ainai,A., Ami, Y., Nagata, N., Iwata, N., Kawaguchi, A., Suzuki, Y., Odagiri, 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

Ikeno, D., Kimachi, K., Kino, Y., Harada, S., Yoshida, K., Tochiyama, 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

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., 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.

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.

Ainai, A., Ichinohe, T., Tamura, S., Kurata, T., Sata, T., Tashiro, M., Hasegawa, H.: Zymosan enhances the mucosal adjuvant activity of Poly(I:C) in a nasal influenza vaccine. *J. Med. Virol.* 82: 476-484, 2010

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.

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

Bertozi, 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

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

Thongratsaku, S., Songserm, T., Poolkhet, C., Kondo, S., Yagi, H., Hiramatsu, H., Tashiro, M., Kato, K., Suzuki, Y. Determination of N-linked sialyl-sugar chains in the lungs of domestic cats and dogs in Thailand. *J. Gen. Virol. Open Glycoscience* 2: 28-36, 2009

Wada, T., Morishima, T., Okumura, A., Tashiro, M., Hosoya, M., Shiomi, M., Okuno, Y. Differences by age in clinical manifestations of influenza-associated encephalopathy. *Microbiol. Immunol.* 53: 83-88, 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

Kawakami, C., Obuchi, M., Saikusa, M., Noguchi, Y., Ujike, M., Odagiri, T., Tashiro, M. Isolation of oseltamivir-resistant influenza A/H1N1 virus of different origins in Yokohama City, Japan during the 2007-2008 influenza season. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62: 83-86, 2009

Russell, C. A., Jones, T. C., B Cox, N. J., Gregory, V., Gust, I. D., 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.

Nicoll, A., Mori, K., Tashiro, M. Winston Churchill and the Russian Pandemic of 1890-91 *Br. Med. J.* 337: 2890, 2008

Kamijuku H., Nagata, Y., Ichnose, T., Jiang X., Tashiro, T., Mori, K., Taniguchi, Y., Hase, K., Ohno, H., Shimaoka, 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

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

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

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 negativeregulation of type 1 interferon

gene expression. J. Biol. Chem. 283: 25660-25670, 2008

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

Nicoll, A., Mori, K., Tashiro, M. Winston Churchill and the Russian Pandemic of 1890-91. Br. Med. J. 337: 2890, 2008

英文原著論文 176 編(筆頭著者 24 篇)

和文原著論文 7 編(筆頭著者 1 篇)

英文著書 27 冊

和文著書 16 冊

英文総説 21 編

和文総説約 80 篇

受賞

1992:Max Planck Prize (Alexander von Humboldt Foundation, Germany)

2003:Justus Liebig-Medal (University of Giessen, Germany)

2008:Butantan Medal for 100 Years Anniversary of Japanese Immigration to Brazil

・平成 23 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

(1) 高病原性の新型インフルエンザ発生に対する事前準備及び、緊急対応に関する研究

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
研究発表会

組織培養系を用いた新型インフルエンザ ワクチンの開発研究

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長
田代 真人

<研究の背景>

現行のワクチン鶏卵培養法では準備に長期間を要する

- ↳ 短期間に安定した大量のワクチンウイルスを増殖可能
→パンデミック時の緊急事態に対応可能

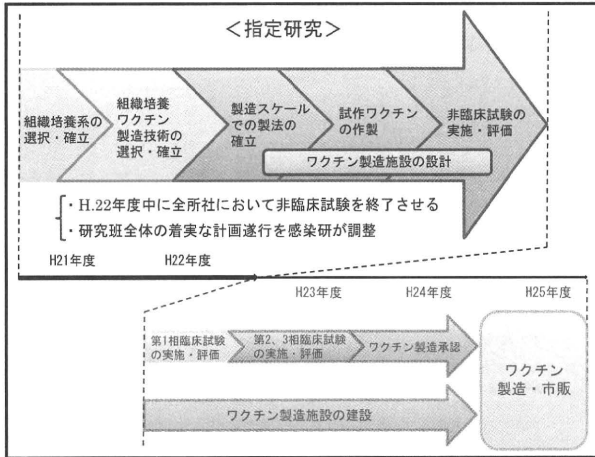
ヒト分離ウイルスを発育鶏卵で増殖させるためには馴化が必要

- ↳ ヒト分離ウイルスは哺乳類細胞で効率よく増殖するので馴化が不要

発育鶏卵への馴化の過程でウイルスの遺伝的、抗原的変異が生じる

- ↳ 馴化過程を経ないので、高い有効性と遺伝的・抗原的安定性を確保できる

<指定研究>



使用細胞とワクチン剤形

| 共同研究機関名 | 使用細胞 | | | 作製ワクチン | |
|------------|-------------------|--|------|----------|-------------|
| | 細胞株名 | 由来 | 培養状態 | 剤形 | アジュバント |
| 化学及血清療法研究所 | EB66 | アヒル胚性幹細胞 | 浮遊 | サブユニット | AS03 |
| 北里研究所 | MDCK (ATCC NBL-2) | イヌ腎臓 | 附着 | 全粒子 | 水酸化アルミニウム |
| デンカ生研 | MDCK (33016) | イヌ腎臓 | 浮遊 | サブユニット | 水酸化アルミニウム |
| 阪大微生物病研究会 | MDCK (ATCC NBL-2) | イヌ腎臓 | 附着 | 全粒子 | (水酸化アルミニウム) |
| UMNファーマ | expresSF+ | ハスモンヨトウガ近似種 <i>Spodoptera frugiperda</i> | 浮遊 | 発現系 (HA) | なし |

国立感染症研究所

外部評価委員会の設置、評価会の定期的開催

組織培養ワクチン実用化に必要な非臨床試験の着実な遂行を調整

組織培養インフルエンザワクチンの安全性に関する Points to consider を作製

- 細胞株の腫瘍原性とがん原性
- 細胞溶解物 (ライソート・DNA) の安全性
- ウイルスの遺伝的・抗原的変化への影響の検討法と許容範囲
- 細胞株の内因性感染性因子の試験の範囲
- 試薬作製過程で混入する可能性のあるヒト由来病原体の試験範囲
- ウイルスHAの定量法

平成21~22年度 研究実施成果

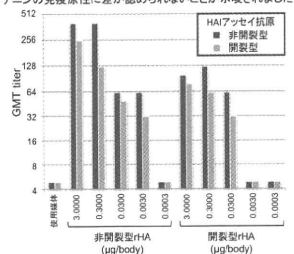


- 45Lスケールでの培養・精製を複数回実施し、事業化目標数値を上回る生産性と再現性の高い品質成績を得た。
- 45Lスケールのパイロットプラントにて製造された製剤を用いて、H22年3月より非臨床試験を開始した。その結果、第I相臨床試験を行う上で問題となる所見は認められなかった。
- 複数の第I相臨床試験用原薬製造を終了し、収量、品質ともに非臨床試験薬製造時と同等の成績が得られた。
- アジュバントAS03を添加したEB66細胞由来抗原 (H5N1/インドネシア株) のマウスでの免疫原性を評価した結果、低用量の抗原でも高い抗体価を示し、国内既承認の「沈降インフルエンザワクチン(H5N1)」(アルミニウムアジュバント添加鶏卵不活化全粒子ワクチン)と同等以上の抗体産生能を有することが判った。
- スケールアップ検討として600Lスケールでのテスト製造を行い、ウイルス産生量、抗原収量、精製品質いずれも既存の45Lスケールの成績を再現した。
- 第II/III相治験薬製造のための既存プラント改造、並びにスケールアップを目的とした1200L培養スケールのパイロットプラント工事を開始した。
- 実生産設備に関しては、基本計画策定を完了し、来年から建築工事に向けて、基本設計を開始した。

組換えヘムアグロチニンワクチンの非臨床試験

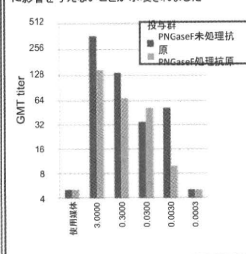
4. 開裂・非開裂が免疫原性に与える影響

マウスにおいては、開裂型と非開裂型の組換えヘムアグロチニンの免疫原性に差が認められないことが示唆されました。



5. 糖鎖修飾が免疫原性に与える影響

マウスにおいては、糖鎖修飾の有無は免疫原性に影響を与えないことが示唆されました。



(参考)
毒性試験
・治験

以下の試験に関して、毒性変化は認められませんでした。
 ラット及びマウスの単回投与毒性試験、ラットを用いた反復投与毒性試験及び回復試験、
 ラットを用いた生殖発生毒性試験、ウサギを用いた局所刺激性試験、ラット及びマウス
 を用いた安全性薬理試験
 ・第I/II相、第II相臨床試験を完了しており、現在、ブースター効果を確認する第II相臨床試
 験を実施しております

研究成果のまとめと今後の課題

全所社において組織培養ワクチンの開発が着実に遂行され、非臨床試験を平成22年度内に終了させることができる見通しが立った。

組織培養ワクチン非臨床・臨床試験項目等のガイドライン化

現在進行中の課題

臨床試験用ワクチン製造施設の建設が国の援助で開始

平成23年度からの臨床試験を計画中

組織培養ワクチン製造株開発に関する国際共同研究が進行中

製造株とワクチン製品の品質管理法を検討中

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 成果概要

研究課題：沈降インフルエンザワクチン H5N1 新規株による免疫原性・交叉免疫性
を含めた追加接種効果に関する研究

課題番号：H22-新興-指定-021
 予定期間：H22年度からH22年度まで
 研究代表者：庵原俊昭
 所属研究機関：国立病院機構三重病院
 所属部局：医局
 職名：院長

年次別研究費(交付決定額)：

1年目 195,000,000 計 195,000,000 円

I. 研究の意義

- (1) 沈降インフルエンザワクチン H5N1 ベトナム株(クレード1)のプライミング効果は示されているが、クレードの異なる株のプライミング効果を明らかにする。
- (2) 各株のプライミング効果、ブースティング効果、交叉免疫性を検討し、国家備蓄ワクチン製造用候補株を明らかにする。
- (3) クレードの異なる株の組み合わせによるプライミングおよびブースティング効果、交叉免疫性を明らかにし、プレパンデミックワクチンの備蓄方針、接種方針の検討資料を提供する。

：

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) インドネシア株(クレード2.1)、安徽株(クレード2.3)、青海株(クレード2.2)の免疫プライミング効果、ブースティング効果、交叉免疫性を明らかにする。
- (2) 今後のプレパンデミックワクチンの備蓄方針や接種方針(事前接種など)の検討資料となる。
- (3) H5N1によるパンデミック発生時、パンデミック株によるワクチンが供給されるまで、プレパンデミックワクチンによるプライミングおよびブースティングすることの理論的根拠となる。

：

III. 1年間の研究成果

※この期間にどのような成果があったか、研究代表者、研究分担者毎に、できるだけわかりやすく具体的に記述してください。

・研究代表者(庵原俊昭)

(1) 青海株(クレード2.2)の免疫原性および同株ブースター効果、交叉免疫性を確認するために、H5N1 ワクチン未接種の成人120名を対象に、青海株を0日、21日、180日の3回接種する計画を立て、現在2回接種が終了した。同時に1回目接種前、2回目接種前(1回目接種21日後)、2回目接種21日後の3回採血した。

(2) 1回目接種前、2回目接種前(1回目接種21日後)、2回目接種21日後の血清を用いて、クレ

ードの異なるベトナム株、インドネシア株、安徽株、青海株に対する中和抗体価を測定中であり、プライミング時の免疫誘導、交叉免疫性を確認する予定である。現在までのところ、接種前、2回目接種21日後のインドネシア株に対する中和抗体価が測定されており、接種前は全員陰性、2回目接種21日後の中和抗体40倍以上の陽性者は117人中6人(5.1%)だけであり、初回接種では広い交叉免疫性は認められていない。

(3) 1回目接種後21日間、2回目接種後21日間の事後観察記録を集め、安全性について解析中である。今までのところ、直接の因果関係がない重篤な有害事象を1例に認めている。

(4) 3回目接種は2011年2月であり、沈降インフルエンザワクチンH5N1接種前、接種7日後、接種21日後に採血し、上記4株に対する血清中和抗体を測定すると同時に、ワクチン後21日間の事後観察を予定している。

:

・研究分担者(伊藤澄信)

(1) 異株ブースター効果を確認するために、2年前にインドネシア株(クレード2.1)の接種を受けた100人、安徽株(クレード2.3)の接種を受けた100人を対象に、青海株(クレード2.2)を1回接種し、接種前、接種7日後、3週後に採血を行うと同時に3週間の事後観察を行った。

(2) 事後観察記録を用いて安全性について解析中であるが、現在までのところ重篤な副反応は認められていない。

(3) 追加接種による交叉免疫性を明らかにするために、ベトナム株、インドネシア株、安徽株、青海株の4株に対する中和抗体価を測定中である。現在までのところ、初回インドネシア株接種群における青海株追加接種3週後のインドネシア株に対する抗体価は(測定100例)、陽転率97%、抗体陽性率97%、抗体増加率26.7倍、ベトナム株に対する抗体価は(測定70例)、陽転率82.9%、陽性率84.3%、抗体増加率7.5倍、青海株に対する抗体価は(測定66例)、陽転率92.4%、陽性率92.4%、抗体増加率19.5倍と、いずれも EMEA (ヨーロッパ医薬品局) のインフルエンザワクチン免疫原性評価基準(抗体陽転率 \geq 40%、抗体陽性率 \geq 70%、抗体増加率 \geq 2.5倍)を満たしていた。また、初回安徽株接種群における青海株追加接種3週後のインドネシア株に対する抗体価は(測定100例)、陽転率86%、抗体陽性率88%、抗体増加率13.5倍、ベトナム株に対する抗体価は(測定50例)、陽転率60%、陽性率74%、抗体増加率3.4倍、青海株に対する抗体価は(測定50例)、陽転率80%、陽性率82%、抗体増加率9.1倍と、この群も EMEA のインフルエンザワクチン免疫原性評価基準を満たし、いずれの群も追加接種により広い交叉免疫が認められた。

(4) 国家備蓄用沈降インフルエンザワクチンH5N1製造担当者に沈降インフルエンザワクチンH5N1を21日間隔で2回接種し、免疫原性と安全性について検討している。

今までの結果から、インドネシア株、安徽株初回接種時と同様に、青海株初回接種時にはヘテロの株に対する交叉免疫は誘導できにくいこと、初回接種がインドネシア株群、安徽株群いずれにおいても、青海株追加接種により二次免疫応答と広い交叉免疫性が認められ、ベトナム株初回接種時と同様にこれらの株の接種においても、免疫プライミングが誘導されることが示された。以上の結果から、本邦の沈降インフルエンザワクチンH5N1は、株がかわっても2回の初回接種で免疫プライミングが誘導でき、異なった株で追加接種すると二次免疫応答と幅広い交叉免疫性が誘導できる

ことが示唆された。今までのところ、すべての株に対する抗体価を測定していないため、株によるプライミング効果と交叉免疫性の差は不明であるが、プライミングの誘導という点では、株による差はないと判断され、発育鶏卵で増殖の良い株を用いて備蓄用ワクチンを製造すると効率がよいと推察された。また、本邦の沈降インフルエンザワクチンは、初回接種の株が異なっても、いずれの株でも免疫プライミングが誘導され、異なったクレードの株による 1 回追加接種で、高い免疫賦活と幅広い交叉免疫の誘導が予測されたことから、H5N1 パンデミックに備えるならば、希望者にいずれかの株で 2 回接種しておき、パンデミック出現時にプレパンデミックワクチンを 1 回追加接種する方法も、H5N1 パンデミック対策の一つの選択肢と判断された。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) プレパンデミックワクチン候補株の選定
- (2) プレパンデミックワクチンによる事前接種の検討
- (3) H5N1 パンデミック出現時、プレパンデミックワクチンによりプライミングとブースティングした場合のパンデミックウイルスに対する交叉免疫性の検討

：

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) プライミング効果およびブースティング効果がよく、更に交叉免疫性が広く、安全に接種できるワクチン株を選定することにより、効率の良いプレパンデミックワクチンを備蓄できる。
- (2) プレパンデミックワクチンには有効期限があり、いずれの組み合わせでもブースティング接種により幅広い交叉免疫性が認められるならば、希望者にはプレパンデミックワクチンの接種を行い、国民に安心を提供できる。
- (3) 現在わかっているクレード以外の株が出現した場合、ブースティング後の血清を用いて、新たに出現した株に対する交叉免疫性を検討することで、新たに出現した株に対する対応が予測できる。

：

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

※本研究費において行った研究に対するもののみを記載してください。

※研究代表者、研究分担者、研究協力者ごとに、発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、

知的財産権の取得及び申請状況、ガイドライン名・作成主体・策定年月日等を記載して下さい。

※執筆者全員を明記し、当該研究者名に下線を引いてください。

- (1) 庵原俊昭：沈降インフルエンザワクチン H5N1 の開発と今後. インフルエンザ 11:63-68, 2010
- (2) 庵原俊昭：パンデミックインフルエンザワクチン：プロトタイプワクチンと 2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチン. 臨床と微生物 37:233-239, 2010
- (3) 庵原俊昭：沈降新型インフルエンザワクチンの評価とインフルエンザ A (H1N1) 2009 ワクチンの今後. ウイルス 60:69-78, 2010