

が減少しなかった。体重変化の違いは病原性の違いを反映していると考えられているので、最も病原性の強い株として Norway3487 株を、最も病原性の弱い株として Osaka164 株を選択した。

次に、マウスで病原性が大きく異なっていた 2 株 (Osaka164 株および Norway3487 株) について、それらの遺伝子を組換えウイルスを作製し、マウスに感染させ病原性を調べたところ、Osaka164 株のポリメラーゼタンパク質 (PB2, PB1, PA) および NP を持ち、それ以外の分節は Norway3487 株由来の遺伝子組換えウイルスは、親株 2 株よりもマウスでの病原性が強く、死亡する個体 (5 匹中 3 匹死亡) も観察された。また、Osaka 株の HA 分節を Norway 株の HA 分節に置換したウイルス感染群は比較的激しい体重減少を示したが、それ以外の遺伝子組換えウイルス感染マウスは Osaka164 株感染群と同程度の体重減少しか示さなかった。

親株 2 株間のアミノ酸配列を比較したところ、既知の病原性発現に関与するアミノ酸変異がみられなかったことから、Osaka164 株のポリメラーゼタンパク質に未知の病原性発現因子があることが示唆された。そこで病原性発現因子を絞り込むために、遺伝子組換えウイルスを作出し、マウスにおける病原性および感染個体の肺におけるウイルス増殖について解析を行った。その結果、Norway 株の PB2 の 649 番目および PB1 の 667 番目のアミノ酸に変異を導入したウイルス、または Norway 株の PB2 の 340 番目および PB1 の 667 番目のアミノ酸に変異を導入したウイルスはマウスにおいて Norway 株より高い致死率を示した。しかし、どちらのウイルスも、肺におけるウイ

ルス増殖は Norway 株と同じ程度であった。

D. 考察

Norway 株の PB2 の 649 番目および PB1 の 667 番目、Norway 株の PB2 の 340 番目および PB1 の 667 番目のアミノ酸は、ウイルス増殖性以外に影響を与える新規病原性発現因子であることが明らかになった。特に、PB2 の 649 番目と PB1 の 667 番目は PB2 と PB1 の相互作用部位に位置することから、何らかの相互作用によって病原性に影響を与えていることが示唆された。

E. 結論

本研究により、A(H1N1)pdm09 ウイルスについて、新規のウイルス側の病原性発現因子が同定され、また、遺伝子交雑によって親株よりも病原性の高い株が出現する可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sakabe S, Ozawa M, Takano R, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y. Mutations in PA, NP, and HA contribute to adaptation of a pandemic (H1N1) 2009 influenza virus to mice. *Virus Res* 158:124-129, 2011.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）
分担研究報告書

インフルエンザサーベイランスと新型インフルエンザ発生
に対する危機管理体制の構築

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・センター長

研究要旨 新型インフルエンザによる被害を最小限にとどめるためには、その発生をいち早く捉える必要がある。しかし、病原体サーベイランス事業を利用した現在の新型インフルエンザ早期検知システムは、国内に侵入、発生した新型インフルエンザを迅速に検知できず見逃す懸念がある。特にブタのインフルエンザを対象にしたサーベイランスは不備が多く十分に機能していない。現監視システムの強化や新たな監視システムの構築が必要である。

A. 研究目的

2003年後半から東アジア地域で発生した家禽や野鳥におけるH5N1高病原性鳥インフルエンザの大流行は、ユーラシア全域とアフリカに拡大し、各国の養鶏産業に甚大な被害をもたらしている。この間東アジアや中近東では、60%近い死亡率を伴うヒト感染例が確認され、このウイルスに起因した世界的大流行（パンデミック）が危惧されている。幸いにして国内では、この鳥ウイルスによるヒト感染例は今のところ報告されていない。しかし、渡航者が海外の流行地で感染することによって、鳥ウイルスや新型ウイルスの可能性を持つウイルスを国内に持ち込む可能性が懸念される。一方、国内においても新型インフルエンザの中間宿主と考えられているブタの体内で、鳥由来ウイルスがヒトの季節性ウイルスと遺伝子交雑を起こすことで、新型ウイルスが発生することも想定される。実際、2009年に出現したパンデミックA(H1N1)2009ウイルスは、ブタ由来のウイルスであることが明らかにされており、さらには、ブタ由来のH3N2やH1N2ウイルスによる散発的なヒト感染例が2011年以降米国で報告されて

いる。危機管理対策の一環として、新型インフルエンザ発生に迅速に対応するためには、新型ウイルスを早期かつ的確に検知できる病原体サーベイランス体制を構築しておくことが必要である。本研究では、新型インフルエンザウイルス早期検知の視点から現行の感染症サーベイランス体制の評価を行うとともに、今後の監視体制の在り方について検討した。

B. 研究方法

我が国では、感染症新法により感染症の発生の予防及びまん延の防止を目的に、患者発生状況サーベイランス、病原体サーベイランス、感染症流行予測調査の3つの体系を柱とした感染症発生動向調査(サーベイランス)事業が行なわれている。本年度は、新型インフルエンザウイルスの早期検知と同定、流行動向に関して、現行のサーベイランス体制が抱える課題と問題点を整理し、考察した。

C. 研究結果と考察

全国約5,000カ所のインフルエンザ定点医療機関でインフルエンザ様疾患の患者から採取された臨床材料は、各地方の衛生研究所に送付され、病原体の同定が行なわれている。全国の地方衛生研究所によって毎年一万株近くのウイルスが分離され、迅速に解析されている現在の体制は、世界的に見ても非常に高いレベルにある。しかしながら、地方衛生研究所間での診断技術レベルの差は依然として大きく、実験精度の低いラボでは新型インフルエンザ陽性例を見逃してしまう可能性がある。特に、インフルエンザシーズンから外れた時期においては、せっかくウイルスが分離されても、その後の鑑別検査技術が不十分であれば、他の呼吸器系感染症として処理されてしまうことが予想される。ラボ担当者の知識や技術レベルを向上させ、一定水準に保つには、新型インフルエンザのみならず呼吸器感染症全般に関する不断の啓発活動や教育が必要であり、定期的な診断技術研修も不可欠である。

一方、感染症流行予測事業においてはブタの世界におけるインフルエンザウイルスの動向を監視する目的で、ブタの呼吸器からウイルス分離が試みられている。毎年約千頭を対象に調査が行なわれているが、その頭数は、全国で飼育されている年間頭数の0.01%ほどでしかなく、この規模では、新型インフルエンザの侵入や発生を見逃す可能性が高い。さらにブタから新型ウイルスが分離されても、現在のシステムでは、この感染ブタがどの養豚場で飼育されていたのか追跡することができない。そのため、新型ウイルスがブタの間でどの程度広がっているのか、養豚場の従事者やその家族が感染しているのか把握できず、以後の対策に役立てることができない。このようにブタを対象にしたサー

ベイランス体制は十分に機能しておらず、厚生労働省による一事業では限界がある。調査対象数を大幅に拡大し、感染ブタの養豚場を追跡できるシステムを新たに構築するためには、養豚産業を所管する農林水産省による協力が不可欠であり、両省による横断的な取り組みが必要である。

D. 結論

現在の感染症サーベイランスシステムでは、新型インフルエンザの国内侵入や発生を迅速に検知できないことが懸念される。それゆえ、現監視システムの強化や新たな監視システムの構築が急務である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ainaï, A., Tashiro, M., Hasegawa, H., :Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. *Human vaccines 7 Suppl*, 174-182. 2011
- 2) Ampofo, W.K., Baylor, N., Cobey, S., Cox, N.J., Daves, S., Edwards, S., Ferguson, N., Grohmann, G., Hay, A., Katz, J., Kullabutr, K., Lambert, L., Levandowski, R., Mishra, A.C., Monto, A., Siqueira, M., Tashiro, M., Waddell, A.L., Wairagkar, N., Wood, J., Zambon, M., Zhang, W., Improving influenza vaccine virus selection Report of a WHO informal consultation held at WHO headquarters, Geneva, Switzerland, 14-16 June 2010. *Influenza and other respiratory viruses*. DOI:10.1111/j.1750-2659.2011.00277
- 3) Featherstone, D.A., Rota, P.A., Icenogle, J., Mulders, M.N., Jee, Y., Ahmed, H., de Filippis, A.M., Ramamurty, N., Gavrillin, E., Byabamazima, C., Dosseh, A., Xu, W., Komase, K., Tashiro, M., Brown, D., Bellini, W.J., Strebel, P., :Expansion of the global measles and rubella laboratory network 2005-09. *The Journal of infectious diseases* 204 Suppl 1, S491-498. 2011
- 4) Fujitsuka, A., Tsukagoshi, H., Arakawa, M., Goto-Sugai, K., Ryo, A., Okayama, Y.,

- Mizuta, K., Nishina, A., Yoshizumi, M., Kaburagi, Y., Noda, M., Tashiro, M., Okabe, N., Mori, M., Yokota, S., Kimura, H., :A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness. *BMC infectious diseases* 11, (168).1471-2334, 2011
- 5) Harada, Y., Ninomiya-Mori, A., Takahashi, Y., Shirakura, M., Kishida, N., Kageyama, T., Tada, Y., Tashiro, M., Odagiri, T., : Inactivated and adjuvanted whole-virion clade 2.3.4 H5N1 pre-pandemic influenza vaccine possesses broad protective efficacy against infection by heterologous clades of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in mice. *Vaccine* 29, 8330-8337. 2011
- 6) Hurt, A. C., Chotpitayasunondh, T., Cox, N. J., Daniels, R., Fry, A. M., Gubareva, L. V., Hayden, F. G., Hui, D. S., Hungnes, O., Lackenby, A., Lim, W., Meijer, A., Penn, C., Tashiro, M., Uyeki, T. M., Zambon, M., :Antiviral resistance during the 2009 influenza A H1N1 pandemic: public health, laboratory, and clinical perspectives. *The Lancet infectious diseases*. Dis. doi:10.1016/S1473-3099(11)70318-8 (2011)
- 7) Ikeno, D., Kimachi, K., Ibaragi, K., Kudo, Y., Goto, S., Odoh, K., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Kino, Y., :Differences in the priming effect of various clades/subclades of inactivated H5N1 vaccine for booster injection with heterologous clades of vaccine strains. *Vaccine* 29, 4156-4161. 2011
- 8) Nakauchi, M., Ujike, M., Obuchi, M., Takashita, E., Takayama, I., Ejima, M., Oba, K., Konomi, N., Odagiri, T., Tashiro, M., Kageyama, T., :Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. *Journal of medical virology* 83, 1121-1127. (2011)
- 9) Nakauchi, M., Yasui, Y., Miyoshi, T., Minagawa, H., Tanaka, T., Tashiro, M., Kageyama, T., :One-step real-time reverse transcription-PCR assays for detecting and subtyping pandemic influenza A/H1N1 2009, seasonal influenza A/H1N1, and seasonal influenza A/H3N2 viruses. *Journal of virological methods* 171, 156-162. 2011
- 10) Nakauchi, M., Yoshikawa, T., Nakai, H., Sugata, K., Yoshikawa, A., Asano, Y., Ihira, M., Tashiro, M., Kageyama, T., :Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. *Journal of medical virology* 83, 10-15. 2011
- 11) Aina, A., Tamura, S., Suzuki, T., Ito, R., Asanuma, H., Tanimoto, T., Gomi, Y., Manabe, S., Ishikawa, T., Okuno, Y., Odagiri, T., Tashiro, M., Sata, T., Kurata, T., Hasegawa, H., :Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. *Journal of medical virology* 84, 336-344. 2012
- 12) Ujike, M., Ejima, M., Anraku, A., Shimabukuro, K., Obuchi, M., Kishida, N., Hong, X., Takashita, E., Fujisaki, S., Yamashita, K., Horikawa, H., Kato, Y., Oguchi, A., Fujita, N., Tashiro, M., Odagiri, T., :Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009-2010. *Emerging infectious diseases* 17(3), 470-479. 2011
- 13) The WHO-ECDC writing committee :Public health implications of oseltamivir resistance emergence in pre-pandemic influenza A(H1N1) viruses during the 2007-2009 seasons *J. Influenza. Resp. Viral Infect* 2011
- 14) Yanagita, H., Yamamoto, N., Fuji, H., Liu, X., Ogata, M., Yokota, M., Takaku, H., Hasegawa, H., Odagiri, T., Tashiro, M., Hoshino, T., 2012. Mechanism of Drug Resistance of Hemagglutinin of Influenza Virus and Potent Scaffolds Inhibiting Its Function. *ACS chemical biology*. doi.10.1021/cb200332k 2012
- 15) 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 Sande, M., Van der Velden, K., Weber, T., Zambon, M. Public Health Implications of Oseltamivir Resistance: Emergence in Pre-pandemic. *Influenza A(H1N1) Viruses during the 2007 - 2009 Seasons. Influenza and other respiratory viruses* (2012, in press)
- 16) Ohnishi, K., Takahashi, Y., Kono, N.,

- Nakajima, N., Mizukoshi, F., Misawa, S., Yamamoto, T., Mitsuki, Y. Fu, S., Hirayama, N., Ohshima, M., Ato, M., Kageyama, T., Odagiri, T., Tashiro, M., Kobayashi, K., Itamura, S., Tsunetsugu-Yokota, Y. Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies. Jpn. J. Infect. Dis. :65(1), 19-27, 2012
- 17) Asanuma, H., Zamri, N.B., Sekine, S., Fukuyama, Y., Tokuhara, D., Gilbert, R.S., Fukuiwa, T., Fujihashi, K., Sata, T., Tashiro, M., Fujihashi, K. :A novel combined adjuvant for nasal delivery elicits mucosal immunity to influenza in aging. Vaccine 30, 803-812. 2012
- 18) Klimov, A. I., Garten, R., Russell, C., Barr, I. G., Besselaar, T. G., Daniels, R., Engelhardt, O.G., Kelso, A., McCauley, J., Odagiri, T., Smith, D., Tashiro, M., Xu, X., Webby, R., Wang, D., Ye, Z., Shu, Y., Zhang, Z., Cox, N. WHO recommendations for the viruses to be used in the 2012 Southern Hemisphere Influenza Season: Epidemiology, antigenic and genetic characterises of pandemic influenza A(H1N1)pdm09, seasonal A(A(H3N2)) and B influenza viruses. Vaccine (2012, in press)
- 19) 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, 2012)

2. 学会発表

- 1) H. Takahashi, Y. Harada, N. Shimasaki, K. Nakamura, I. Hamamoto, N. Yamamoto, T. Odagiri, S. Itamura, M. Tashiro : INEFFICIENT ABILITY OF LLC-MK2 CELLS IN SUPPORTING THE GROWTH OF INFLUENZA VIRUSES ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS: ANALYSIS OF ADAPTATION OF VIRUSES TO LLC-MK2 CELLS AND UNDERLYING MECHANISM International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, September 2011

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

2009-2010 年、2011-2011 年シーズンに日本で流行した インフルエンザウイルスの分子疫学的解析

研究分担者 齋藤玲子 新潟大学医歯学総合研究科国際保健学分野・教授
研究分担者 鈴木宏 新潟青陵大学看護福祉学部・教授
研究協力者 ソル・ダパット、クライド・ダパット、近藤大貴、菖蒲川由郷、
齋藤孔良（新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野）

研究要旨

2009-2010 年、2011-2012 年の 2 シーズンに日本各地でインフルエンザ検体を採取し、ウイルス型別と遺伝子解析を行った。2009-2010 年シーズンは A/H1N1pdm のみの流行であった。2010-2011 年は A/H1N1pdm、A/H3N2, B 型の混合流行であった。地域により流行した亜型がことなり、北日本は A/H3N2 が主流で関西は A/H1N1pdm が主流であった。それぞれの亜型の中でも地域により流行した遺伝子型が検出され、同一インフルエンザシーズン中であっても、伝播は 1 回だけではなく複数の時期に海外からインフルエンザが伝播されていることが示唆された。2 シーズンの流行株は血清抗原性的にワクチン株とほぼ一致していた。2009-2010 年シーズンの A/H1N1pdm にはオセルタミビル耐性となる H274Y 変異は認められなかったが(0%)、2011-2012 年には 0.5%とやや頻度が上昇していた。

追記：レバノンの首都ベイルート市の病院でインフルエンザの調査を行い、2010-2011 年シーズンに 75 件のインフルエンザ迅速キット陽性検体を採取した。流行のピークは 2011 年 1 月であった。ウイルス培養後、A/H1N1pdm を 10 件、B 型(Victoria 系)を 11 件検出した。A/H1N1pdm の NA 遺伝子には H274Y 変異は認められなかった。

A. 研究目的

背景

2009 年 3 月下旬から 4 月上旬にかけて、メキシコで豚インフルエンザウイルス A 型に由来する新種のインフルエンザウイルス

のヒトでの感染が発生し、世界的に急速に拡大し、WHO によりこのウイルスの大流行（パンデミック）が宣言された。これは、1968 年の H3N2 香港株以来の世界大流行であった。このパンデミックインフルエンザ

ウイルス A 型 (H1N1pdm) は、日本では 2009 年 5 月に初めて検出された。1 年後の 2010 年 8 月、WHO により H1N1pdm はパンデミック期を経過し、通常の流行株となったことが発表された。

本研究は、パンデミック期 (2009-2010 年) とパンデミック以降の時期 (2010-2011 年) の 2 シーズンにおいて日本で流行したインフルエンザウイルスの型・亜型別の特徴と遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

2009-10 シーズンは、福島、群馬、新潟、京都、兵庫、長崎の 6 県、2010-2011 シーズンは北海道、群馬、新潟、京都、大阪、兵庫、長崎の 7 県の医療機関の外来を受診したインフルエンザ様疾患を呈する初診患者から呼吸器関連検体を採取した。インフルエンザウイルス A, B 迅速診断キットによるスクリーニングの後、検体は新潟大学にて MDCK 細胞にてウイルス分離を行った。培養検体から RNA を抽出し、cDNA 合成を行いリアルタイム PCR で型・亜型判定 (A/H1N1pdm, A/H3N2, B) を行った。流行ウイルス株の特徴は、ヘマグルチニン (HA) とノイラミニダーゼ (NA) 遺伝子配列をシークエンスし、ウイルス系樹解析により分析した。

なお、一部の分離株で赤血球凝集阻害試験 (HAI) によるウイルス型別を行い、ワクチン株との相違を検討した。

(倫理面への配慮)

本調査の遂行上、患者からの検体採取にあたっては担当医より調査の説明を十分に行い、インフォームドコンセントを取得したうえで検体を採取した。本調査は新潟大学の倫理委員会で承認を得た。

C. 研究結果 および D. 考察

2009-10 年シーズンは、合計 733 件の臨床検体から H1N1pdm のみ 601 件分離された (図 1)。HA、NA 遺伝子解析を行ったところ、これらのウイルスはクラスター 2 のニューヨーク系統 (A/NewYork/17/2009 株類似) に属し、ワクチン株である A/California/7/2009 とは異なる群であった (図 2)。しかし、HA 血清抗原性ではワクチン株と一致していた。

2010-2011 年のポストパンデミックのシーズンでは、H1N1pdm の他に H3N2 と B 型の混合流行がみられた。臨床検体は 1278 件採取され、うち、414 件が H1N1pdm (42.6%)、525 件が季節性の H3N2 (54.0%)、インフルエンザウイルス B 型は、33 件 (3.4%) であった。地域により、それぞれのウイルス亜型の優勢度は異なっていた。北海道、新潟、群馬、長崎では A/H3N2 が優勢であり、京都、兵庫、大阪では A/H1N1pdm が優勢であった (図 1)。

H1N1pdm は、前年と同様の Clade 2 の A/NewYork/17/2009 株類似であったが、前年度に比して H1N1pdm は HA の抗原決定部位である S185T、A197T の変異をもつウイルスの流行が最も拡大し、地理的にも広がっていた (図 2)。しかしながら、ワクチン株である A/California/7/2009 に対する HI 抗原性はホモ価 80 倍に対して、流行株が 40-80 倍と血清抗原性的には同一であると考えられた。NA には N44S、V241I、N369K の変異が認められた (図 2)。2 株のみ、オセルタミビル耐性である H275Y 変異を有する株がそれぞれ京都と兵庫で見つかったが、頻度は低かった。(0.5%)、オセルタミビル耐性の流行には至っていないが、前年度はこの変異を持つ株は検出されていなかったことから (0%)、微増していると考えられ、今後も耐性モニタリングを継続する必要があると考えられた。

A/H3N2 は、A/Perth/16/2009-like (ワ

クチン株 A/Victoria/210/2009 類似) と A/Victoria/208/2009 株類似株の二系統の流行がみられた (図 3)。A/H3N2 が先行した流行した北日本と長崎では A/Perth/16/2009-like 株が採取された。しかし、H3N2 の流行が遅れ 1 月後半から見られた関西では A/Victoria/208/2009 類似の系統が主体であった。海外から日本へのインフルエンザの伝播は複数の時期に起こっていることが示唆された。HI 抗原性解析ではワクチン株である A/Victoria/210/200 のホモ価 80 倍に対して、流行株は 40-640 倍であり、抗原性はワクチン株と同等であると考えられた。

B 型は B/Brisbane/60/2008 類似株 (HA 遺伝子-ビクトリア系、NA 遺伝子山形系) と B/Bangladesh/3333/2007 類似株 (HA 遺伝子—山形系、NA 遺伝子—山形系) が検出された。ビクトリア系でワクチン株類似の B/Brisbane/60/2008 類似株が主流をしめた (図 4)。山形系の B/Bangladesh/3333/2007 株は関西のみで検出された。B 型インフルエンザは 2004 年ごろより、HA 遺伝子はビクトリア系で、NA 遺伝子は山形系というリアソータントウイルスが流行している。世界的にこの系統のウイルスの流行が続いているため、今後、抗原性の異なる山形系のウイルスの流行が懸念される。HI 抗原性解析では採取した B/Brisbane/60/2008 系統のウイルスは、ホモ価 1280 倍に対して、40-1280 倍であった。HA の 165 位に変異があり HI 価が 40 倍に下がっている変異株も 1 件見つかった。山形系統のウイルスは A/Florida/04/2006 のホモ価 40 倍に対して採取株は 40-640 倍であった。最新の山形株との血清学的な比較ができなかったため、今後の検討を要する。

E. 結論

インフルエンザは毎年流行株が異なるた

め、ワクチン株の有効性を判定する上でもサーベイランスを継続する必要がある。あわせて薬剤耐性インフルエンザの調査も臨床的に重要であり、継続することが重要である。

追記：レバノンのインフルエンザ調査

レバノンの首都ベイルート市の病院でインフルエンザの調査を行い、2010-2011 年シーズンに 75 件のインフルエンザ迅速キット陽性検体を採取した。流行のピークは 2011 年 1 月であった。ウイルス培養後、A/H1N1pdm を 10 件、B 型 (Victoria 系) を 11 件検出した。A/H1N1pdm の NA 遺伝子には H274Y 変異は認められなかった。ウイルス遺伝子と薬剤耐性については現在解析中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Zaraket H, Kondo H, Tabet C, Hanna-Wakim R, Suzuki Y, Dbaibo GS, Saito R, Suzuki H. Genetic diversity and antiviral drug resistance of pandemic H1N1 2009 in Lebanon. *J Clin Virol*. Jul;51(3):170-4. 2011

2. 学会発表

1. Isolde C Dapat¹, Tatiana Baranovich^{1,3}, Yasushi Suzuki, Clyde Dapat, Reiko Saito, Hiroshi Suzuki. CIRCULATION OF HUMAN INFLUENZA VIRUSES IN THE PANDEMIC (2009-2010) AND POST-PANDEMIC (2010-2011) SEASONS IN JAPAN. XV International Congress of Virology. Sapporo, Japan, Sep 11-16, 2011.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

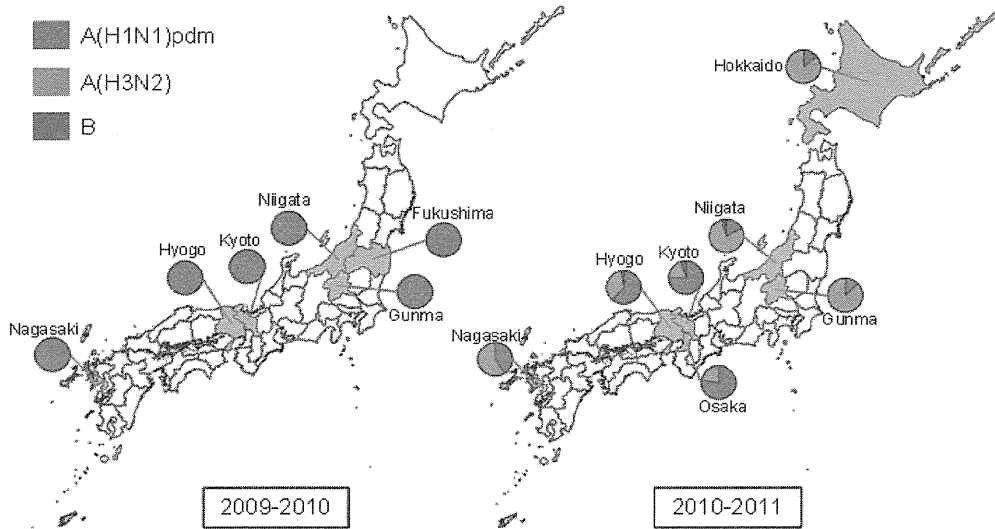


図 1. 2009-2010年シーズン、2010-2011年シーズンの調査地域とウイルス型別分布

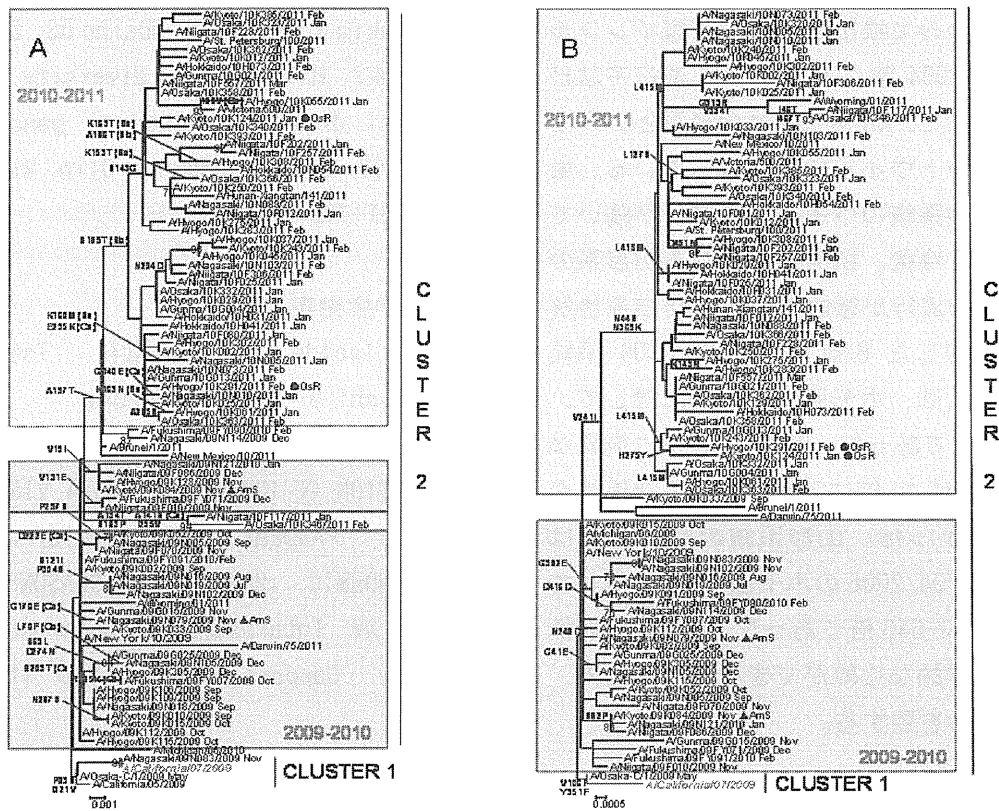


図 2. 2009-2010年シーズンのH1N1pdmのHA遺伝子、NA遺伝子解析

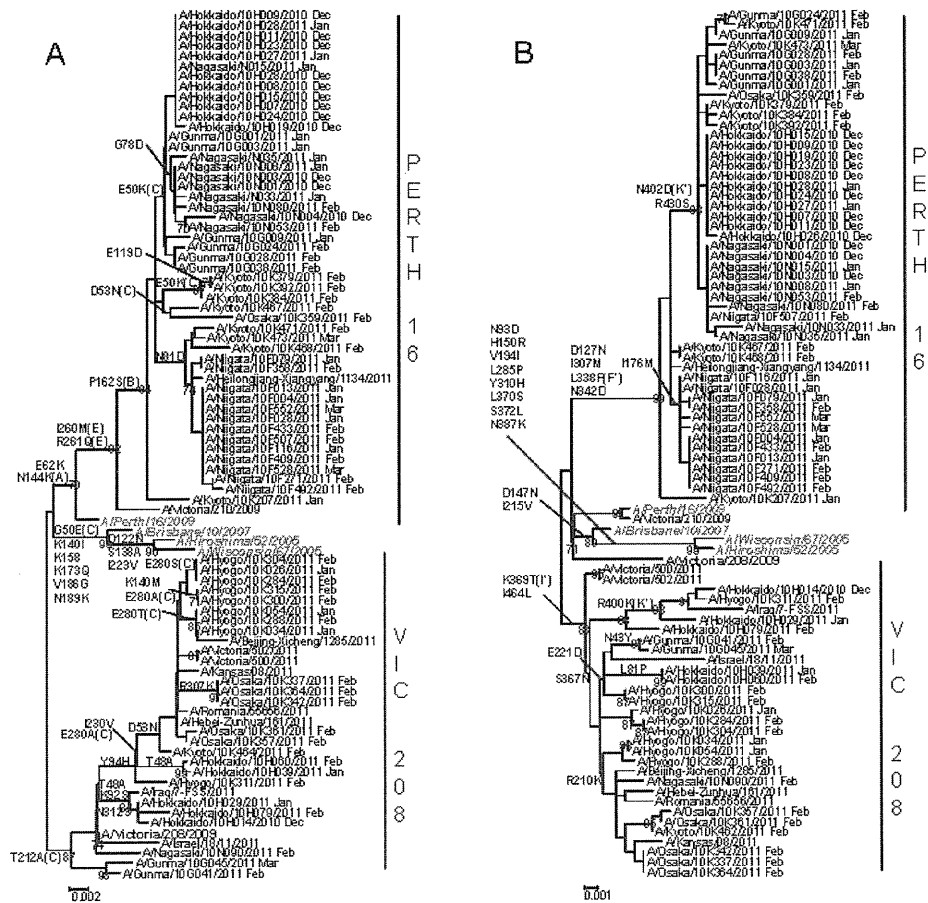


図 3. 2010-2011年シーズンに流行したA/H3N2のHA遺伝子とNA遺伝子解析

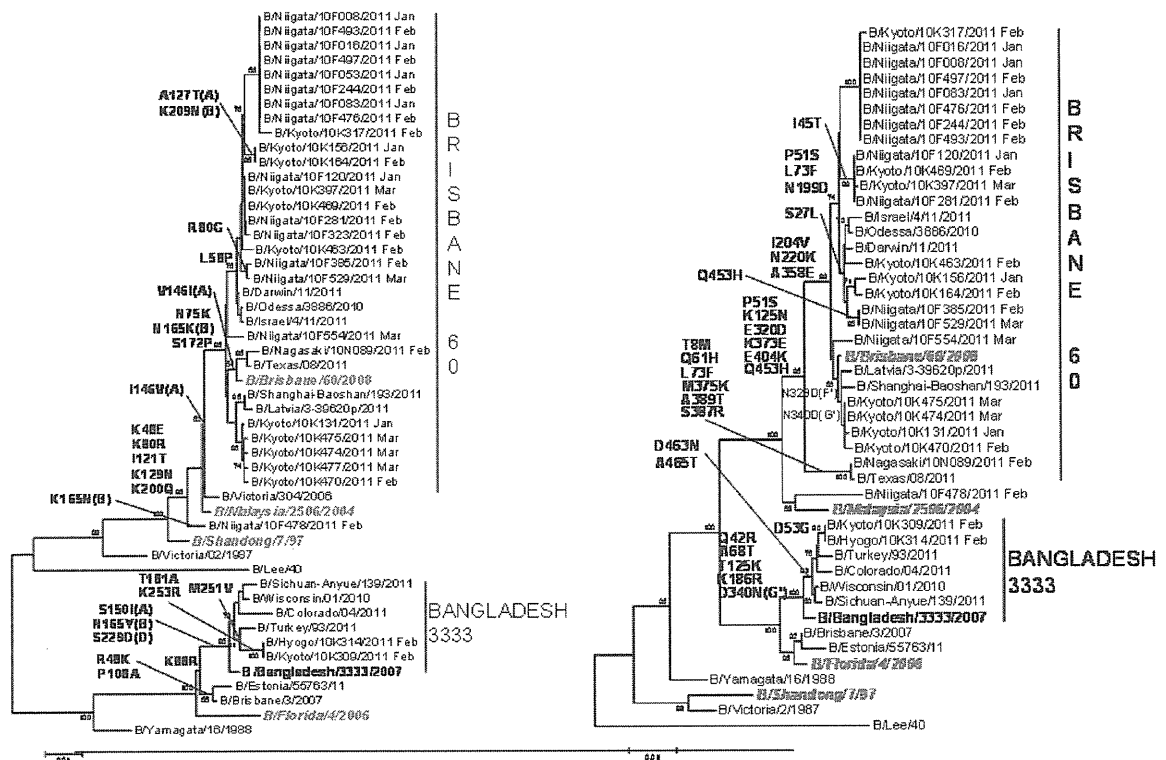


図 4. 2010-2011年シーズンに流行したB型のHA遺伝子とNA遺伝子解析

急性呼吸器感染症の感染メカニズムと疫学、感染予防・制御に関する研究
鳥、ブタなどのインフルエンザ疫学と感染制御体制の検討

（分担）喜田 宏 北海道大学大学院獣医学研究科 動物疾病制御学講座教授

研究要旨： インフルエンザウイルスの自然宿主は野生の水禽であり、ヒトと動物のインフルエンザウイルスの遺伝子の起源は、すべて水禽のウイルスに由来する。よって鳥インフルエンザのサーベイランスはその制圧のための疫学情報のみならず、ヒトの新型ウイルスの出現予測に有益な情報を提供する。本研究は、動物インフルエンザのサーベイランスをグローバルに展開し、分離されたウイルスの遺伝子、抗原性および動物に対する病原性を明らかにし、インフルエンザの予防、診断および治療に役立てることを目的とする。国内およびモンゴルにおいて採取された渡りガモおよびハクチョウの糞便材料1,601検体から39株のインフルエンザウイルスを分離同定した。高病原性鳥インフルエンザウイルスのニワトリにおける病原性発現メカニズムを解析するため、病原性の異なる鳥インフルエンザウイルスをニワトリに感染させ、全身組織におけるウイルス増殖、病理変化およびサイトカイン応答を解析した。その結果、これらウイルスの宿主の組織における増殖とサイトカインmRNAの発現量の間、顕著な相関を認めた。よって、全身組織においてウイルスが急激に増殖し、それにより誘導されるサイトカインの過剰応答が血管障害を引き起こす結果、多臓器不全によってニワトリは斃死すると考えられた。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザはアジア地域だけでなく、ヨーロッパ、アフリカ諸国においても発生が報告され、被害が拡大している。現在流行しているH5N1亜型のウイルスによるヒトへの感染・死亡例も報告されており、新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。ヒトを含む哺乳動物および鳥類のインフルエンザAウイルスの遺伝子の起源は、カモなどの野生水禽のウイルスであることが明らかになっている。本研究では、動物インフルエンザのグローバルサーベイランスを継続し、分離同定されたウイルスの抗原性、遺伝子性状および動物に対する病原性を明らかにし、ヒトと動物のインフルエンザの予防、診断および治療法の開発に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

日本とモンゴルにおいて野鳥の糞便からインフルエンザAウイルスの分離を試みた。分離されたウイルスのHAおよびNAの亜型を同定した。さらにHAおよびNAの亜型に基づいてウイルス株を系統保存した。

また、ニワトリにおける病原性発現のメカニズムを解析するため、高病原性鳥インフルエンザウイルス Turkey/Italy/4580/1999 (H7N1) (IT)株と Chicken/Netherlands/2568/2003 (H7N7) (NL)株、または低病原性鳥インフルエンザウイルス Chicken/Ibaraki/1/2005 (H5N2) (IBK)株をニワトリに経鼻接種し、組織におけるウイルス増殖とサイトカイン応答を追跡した。ウイルス接種後24時間おきに、3羽ずつニワトリを安楽殺し、脳、肺、脾臓および末梢血を採取した。各組織におけるウイルス感染価を測定し、炎症性サイトカイン IL-1 β 、IL-6 および IFN- γ 、抗ウイルス性サイトカイン IFN- α の mRNA 発現量をリアルタイムPCRによって定量した。

C. 研究結果

野鳥の糞便1601検体から39株のインフルエンザウイルスを分離同定した。これらのウイルスはH3、H4、H5、H7、H8、H10の6つのHA亜型に、N3、N4、N6、N7、N8の5つのNA亜型に区分された。これらの分離ウイルスを当研究室のウイルス株ライブラリー (<http://virusdb.czc.hokudai.ac.jp/>) に追加した。

IT株は、ニワトリの組織において急速かつ大量に増殖した。NL株の組織における増殖は、緩慢であった。これら高病原性鳥インフルエンザウイルスの宿主の組織における増殖とサイトカインmRNAの発現量の間、顕著な相関を認めた。一方、IBK株を接種したニワトリの肺および脾臓から微量のウイルスが回収されたが、サイトカインmRNA発現量の上昇は認められなかった。以上の結果は、全身組織における高病原性鳥インフルエンザウイルスの急激な増殖によって誘導されるサイトカインの過剰応答が血管障害を引き起こす結果、多臓器不全によってニワトリは斃死することを示唆している。

D. 考察

ヒトへの感染リスクが高いと考えられるウイルスの流行を家禽の中で抑える対策を国際連携で徹底することが喫緊の課題である。また、サーベイランスで分離される様々な亜型のウイルスとそれらを感染させたときのウイルス増殖と宿主応答を明らかにすることにより、ヒトと動物のインフルエンザの予防、診断および治療法の開発に有用な知見となる。

E. 結論

動物インフルエンザの継続的なグローバルサーベイランスと分離ウイルスの性状解析は、動物とヒトのインフルエンザ対策に有益な情報とウイルス株を得ることができる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yoshida H, Sakoda Y, Endo M, Motoshima M, Yoshino F, Yamamoto N, Okamatsu M, Soejima T, Senba S, Kanda H and Kida H. (2011) Evaluation of the Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) as a Screening Method for the Detection of Influenza Viruses in the Fecal Materials of Water Birds. *J Vet Med Sci* 73, 753-758.
- (2) Yamamoto N, Sakoda Y, Motoshima M, Yoshino F, Soda K, Okamatsu M and Kida H. (2011) Characterization of a non-pathogenic H5N1 influenza virus isolated from a migratory duck flying from Siberia in Hokkaido, Japan, in October 2009. *Virology* 8, 65.
- (3) Soda K, Cheng MC, Yoshida H, Endo M, Lee SH, Okamatsu M, Sakoda Y, Wang CH and Kida H. (2011) A Low Pathogenic H5N2 Influenza Virus Isolated in Taiwan Acquired High Pathogenicity by Consecutive Passages in Chickens. *J Vet Med Sci* 73, 767-772.
- (4) Soda K, Asakura S, Okamatsu M, Sakoda Y and Kida H. (2011) H9N2 influenza virus acquires intravenous pathogenicity on the introduction of a pair of di-basic amino acid residues at the cleavage site of the hemagglutinin and consecutive passages in chickens. *Virology* 8, 64.
- (5) Simulundu E, Ishii A, Igarashi M, Mweene AS, Suzuki Y, Hang'ombe BM, Namangala B, Moonga L, Manzoor R, Ito K, Nakamura I, Sawa H, Sugimoto C, Kida H, Simukonda C, Chansa W, Chulu J and Takada A. (2011) Characterization of influenza A viruses isolated from wild waterfowl in Zambia. *J Gen Virol* 92, 1416-1427.
- (6) Samad RA, Sakoda Y, Tsuda Y, Simulundu E, Manzoor R, Okamatsu M, Ito K and Kida H. (2011) Virological surveillance and phylogenetic analysis of the PB2 genes of influenza viruses isolated from wild water birds flying from their nesting lakes in Siberia to Hokkaido, Japan in autumn. *Jpn J Vet Res* 59, 15-22.
- (7) Samad RA, Nomura N, Tsuda Y, Manzoor R, Kajihara M, Tomabeche D, Sasaki T, Kokumai N, Ohgitani T, Okamatsu M, Takada A, Sakoda Y and Kida H. (2011) A vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 influenza virus strain from the influenza virus library conferred protective immunity to chickens against the challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza virus. *Jpn J Vet Res* 59, 23-29.
- (8) Sakoda Y, Ito H, Uchida Y, Okamatsu M, Yamamoto N, Soda K, Nomura N, Kuri

- bayashi S, Shichinohe S, Sunden Y, Umemura T, Usui T, Ozaki H, Yamaguchi T, Murase T, Ito T, Saito T, Takada A and Kida H. (2011) Reintroduction of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus by migratory water birds, causing poultry outbreaks in 2010-2011 winter season in Japan. *J Gen Virol, in press*.
- (9) Nomura N, Sakoda Y, Soda K, Okamatsu M and Kida H. (2011) An H9N2 Influenza Virus Vaccine Prepared from a Non-Pathogenic Isolate from a Migratory Duck Confers Protective Immunity in Mice against Challenge with an H9N2 Virus Isolated from a Girl in Hong Kong. *J Vet Med Sci, in press*.
- (10) Nomura N, Sakoda Y, Endo M, Yoshida H, Yamamoto N, Okamatsu M, Sakurai K, Hoang NV, Nguyen LV, Chu HD, Tien TN and Kida H. (2011) Characterization of avian influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010. *Arch Virol, in press*.
- (11) Kajihara M, Matsuno K, Simulundu E, Muramatsu M, Noyori O, Manzoor R, Nakayama E, Igarashi M, Tomabechi D, Yoshida R, Okamatsu M, Sakoda Y, Ito K, Kida H and Takada A. (2011) An H5N1 highly pathogenic avian influenza virus that invaded Japan through waterfowl migration. *Jpn J Vet Res* 59, 89-100.
- (12) Isoda N, Sakoda Y, Okamatsu M, Tsuda Y and Kida H. (2011) Improvement of the H5N1 influenza virus vaccine strain to decrease the pathogenicity in chicken embryos. *Arch Virol* 156, 557-563.
2. 学会発表
- (1) 「Rapid replication of H7 highly pathogenic avian influenza virus induces hyper expressions of cytokine mRNAs, leading sudden death of chickens」 S. Kuribayashi, Y. Sakoda, M. Okamatsu, T. Umemura, H. Kida KEYSTONE SYMPOSIA-Pathogenesis of Influenza: Virus-Host Interactions (2011年、香港)
- (2) 「Potency of an inactivated avian influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against the challenge with an antigenically drifted virus of clade 2.3.4」 S. Shichinohe, Y. Sakoda, N. Yamamoto, M. Okamatsu, Y. Noda, Y. Nomoto, T. Honda, Y. Takigawa, H. Kida KEYSTONE SYMPOSIA-Pathogenesis of Influenza: Virus-Host Interactions (2011年、香港)
- (3) 「H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses have perpetuated at their nesting lakes in Siberia?」 Y. Sakoda, M. Kajihara, S. Sugar, M. Okamatsu, R. Sodnomdarjaa, K. Ito, A. Takada, H. Kida KEYSTONE SYMPOSIA-Pathogenesis of Influenza: Virus-Host Interactions (2011年、香港)
- (4) 「2010-2011年に日本で野鳥から分離されたH5N1高病原性鳥インフルエンザウイルス」岡松正敏、伊藤啓史、内田裕子、迫田義博、山本直樹、曾田公輔、笛吹達史、尾崎弘一、山口剛士、村瀬敏之、高田礼人、伊藤壽啓、西藤岳彦、喜田宏 第152回日本獣医学会学術集会 (2011年、大阪)
- (5) 「H5N1非病原性鳥インフルエンザウイルスを用いて試製したワクチンの異なる系統のウイルス攻撃に対する効果」七戸新太郎、岡松正敏、山本直樹、野田優、野元由佳、瀧川義康、迫田義博、喜田宏 第152回日本獣医学会学術集会 (2011年、大阪)
- (6) 「カモの非病原性インフルエンザウイルスがニワトリに感染し増殖する条件」日尾野隆大、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 第152回日本獣医学会学術集会 (2011年、大阪)
- (7) 「Characterization of H9N2 influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010」 N. Nomura, Y. Sakoda, M. Endo, H. Yoshida, N. Yamamoto, M. Okamatsu, K. Sakurai, H. Hoang Van Nam, Ngyuyen Van Long, Chu D

uc Huy, Tien Ngoc Tien, H. Kida 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)

- (8) 「Rapid replication of H7 highly pathogenic avian influenza virus induces hyper expression of cytokine mRNA in chickens」 S. Kuribayashi, Y. Sakoda, M. Okamatsu, T. Umemura, H. Kida 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)
- (9) 「Potency of an inactivated avian influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against the challenge with an antigenically drifted virus of clade 2.3.4」 S. Shichinohe, Y. Sakoda, N. Yamamoto, M. Okamatsu, Y. Noda, Y. Nomoto, T. Honda, Y. Takigawa, H. Kida 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)
- (10) 「H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infections in wild birds and poultry in 2010-2011 winter season in Japan」 Y. Sakoda, H. Ito, Y. Uchida, T. Saito, T. Ito, H. Kida 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)
- (11) 「鳥インフルエンザとパンデミック対策」 喜田宏 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議市民公開講座 (2011年、札幌)
- (12) 「Brisk growth of H7 highly pathogenic avian influenza virus induces hyper expression of cytokine mRNA in chickens」 S. Kuribayashi, Y. Sakoda, T. Tanaka, T. Kawasaki, N. Yamamoto, N. Isoda, Y. Tsuda, M. Okamatsu, T. Umemura, H. Kida 15th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting (2011年、和歌山)
- (13) 「How to control avian and pandemic influenza」 H. Kida 15th US-Japan Acu

te Respiratory Infections Panel Meeting (2011年、和歌山)

G. 知的財産の出願、登録状況
予定なし。

経鼻インフルエンザワクチンにより誘導される交叉免疫応答の解析

分担研究者：長谷川 秀樹（国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター）

研究協力者：相内章（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：経鼻インフルエンザワクチンは感染の場となる気道粘膜に分泌型 IgA に代表される粘膜免疫を誘導し感染防御しさらにその交叉防御能により変異ウイルスに対しても予防効果がある事がマウスを用いた研究で示されてきた。本研究では経鼻インフルエンザワクチン接種後のヒトの鼻腔洗浄液及び血清を解析する事により血清中の中和抗体、気道粘膜上に分泌される IgA 抗体の中和反応及び交叉防御能について検討した。

A. 研究目的

経鼻インフルエンザワクチンにより、現行の皮下接種ワクチンで誘導される血中 IgG 抗体に加え、気道粘膜領域に分泌型 IgA 抗体に代表される粘膜免疫応答が誘導され、感染自体を防ぐことが可能となる。さらに、分泌型 IgA 抗体は交叉防御能が非常に高いため、同じ亜型であれば抗原性の異なる変異株の防御も可能である。したがって、毎年流行を繰り返す季節性インフルエンザや新型インフルエンザウイルスのパンデミックに対する新しいワクチンとして注目され、実用化が待たれている。経鼻インフルエンザワクチンの交叉防御免疫の誘導に関してはマウスを用いた実験で示されてきており皮下接種インフルエンザワクチンと比較し変異株に対し広く防御効果が有る事を示されてきた。しかし経鼻インフルエンザワクチンのヒトへの接種で鼻腔粘膜上に交叉防御能をもつ粘膜免疫が誘導されるかどうかは明らかになっていなかった。そこで本研究では、経鼻インフルエンザワクチンのヒトでの有効性に関して特に交叉防御効果について明らかに

することを目的として鼻腔洗浄液と血清の中和抗体価を測定し解析を行った。

B. 研究方法

材料と方法：

ワクチン接種

成人ボランティア 5 名に 2009/10 シーズン季節性インフルエンザワクチンに含まれる A/Uruguay/716/07 (H3N2) の三倍濃縮スプリットワクチン (45 µg HA/500 µl 接種) を 3 週間間隔で計 5 回経鼻接種した。なお本実験スケジュールは、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た上で実施した。

採材とサンプル調製

ワクチン接種開始より 3 週間毎に採血と鼻腔洗浄液の回収を行った。鼻腔洗浄液は、市販の鼻うがい器具を用い、生理食塩水にて洗浄することにより回収した。回収した鼻腔洗浄液をコットンロールに吸収および溶出することで、粘性の高い鼻汁および粗雑物の除去を行い、次

いで Vivaspin 遠心濃縮チューブを用いて鼻腔洗浄液の濃縮を行った。

総タンパク量、抗体量の定量

鼻腔洗浄液中の総タンパク量は BCA 定量法により測定を行った。また、血清および鼻腔洗浄液中に含まれるアルブミン、IgM、IgG あるいは IgA 抗体量は ELISA 法により測定を行った。

中和抗体価と HI 抗体価の測定

中和抗体価の測定は、マイクロ中和試験により行った。段階的に希釈した血清あるいは鼻腔洗浄液と 100 TCID₅₀ (100 倍量の 50%組織培養感染量) のウイルスとの混合液を MDCK 細胞に添加し、3~4 日間培養を行った。顕微鏡を用いて観察を行い、各サンプルにおいてインフルエンザウイルスによる細胞変性効果のみられない最大希釈倍率の逆数を中和抗体価とした。

HI 抗体価の測定は、通常の赤血球凝集反応阻止試験により求めた。RDE 処理を行った血清あるいは鼻腔洗浄液を段階希釈し、4HA 価の七面鳥血球の添加 45 分後に、赤血球の凝集反応阻害がみられたサンプルの最大希釈倍率の逆数を HI 抗体価とした。

C. 研究結果

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 µg HA/500 µl 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。今回の研究では特に経鼻接種したワクチン株と異なるウイルス株に対する交叉免疫応答を中心に調べた。被験者は現行皮下接種型ワクチン接種歴および感染履歴がそれぞれ異なるため、ワクチン接種前および接

種後の様々なウイルス株に対する抗体応答に差が有る事が予想された。

鼻腔洗浄液の評価に関して、黒野等によって示された鼻腔粘膜中の総タンパク量、各抗体量

(Kurono Y, Mogi G. 1987. Secretory IgA and serum type IgA in nasal secretion and antibody activity against the M protein. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 96(4):419-424) の値と比較し回収される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為これに従った。回収し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様々なウイルス株に対する中和抗体価と HI 抗体価を測定した。表 1 に代表的な被験者 2 名の結果を示す。被験者 1 (P1) は接種前血清の中和抗体価より A/H3N2/Sydney/05/97 及び A/H3N2/New York/55/04 株類似ウイルスへの感染歴があると考えられる。その場合 A/H3N2/Uruguay/716/07 株のワクチン接種により鼻腔洗浄液中にワクチン株である Uruguay 株に対する中和抗体応答よりも過去に感染歴があると思われる Sydney 株及び New York 株に対する中和抗体応答がみられた。これはいわゆる抗原原罪 (antigenic sin) が経鼻ワクチン接種時にもみられていると考えられる。また被験者 3 (P3) は過去 10 年間でインフルエンザウイルス感染歴は無いが、季節性インフルエンザワクチンの経鼻接種歴が有った。その場合、ワクチン株に対して鼻腔洗浄液中の中和抗体応答は良好にみられているが、過去にワクチン接種歴のある株に対しても中和抗体が誘導されていることが示された。また感染歴は無いが 2009 年のパンデミックウイルスに対する中和抗体も鼻腔洗浄液中に存在した。

D. 考 察

本研究において、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 µg HA/500 µl 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。過去に感染歴のあるウイルス株に対しては異なる株である A/H3N2/Uruguay 株による経鼻インフルエンザワクチン接種で特に鼻腔洗浄液中の中和抗体の上昇が著しかった。その場合、ワクチン株に対する中和抗体応答は比較的低いものであった。この現象はいわゆる抗原原罪 (antigenic sin) といわれる現象がスプリットワクチンの経鼻接種でも見られ事がヒトで明らかとなった。また頻りに経鼻的にワクチン接種を行っている個体では幅広い変異株に対する中和抗体応答が見られた。

E. 結 論

経鼻インフルエンザワクチンをヒトに接種した場合誘導される免疫には個人の感染歴やワクチン歴が大きく影響する。血中の中和抗体である IgG 抗体に比較し交叉防御能が高い粘膜上の IgA 抗体は粘膜上でウイルスを中和する点で感染防御に優れているが、もう一つの利点として交叉防御能があげられる。IgA 本来の交叉防御能に加え過去の感染歴やワクチン接種歴によって過去においてプライミングされた免疫が類似抗原の経鼻接種によって誘導されることがあきらかとなった。また感染によって受けたプライミングに対しては強く免疫応答を誘導する一方でワクチン抗原に対しては比較的低い応答となる事 (抗原原罪) が経鼻インフルエンザワクチン接種時にも存在する事が明らかとなった。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanagita H, Yamamoto N, Fuji H, Liu X, Ogata M, Yokota M, Takaku H, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Hoshino T. Mechanism of Drug Resistance of Hemagglutinin of Influenza Virus and Potent Scaffolds Inhibiting Its Function. ACS Chem Biol. 2012 Jan 13.
2. Aina A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. J Med Virol. 2012 Feb;84(2):336-44.
3. Nakao R, Hasegawa H, Ochiai K, Takashiba S, Aina A, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* elicit a mucosal immune response. PLoS One. 2011;6(10):e26163. Epub 2011 Oct 14.
4. Suzuki T, Aina A, Nagata N, Sata T, Sawa H, Hasegawa H. A novel function of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. Biochem Biophys Res Commun. 2011 Nov 4;414(4):719-26. Epub 2011 Oct 6.
5. Fukumoto H, Kanno T, Hasegawa H, Katano H. Pathology of Kaposi's Sarcoma-Associated

- Herpesvirus Infection. *Front Microbiol.* 2011;2:175. Epub 2011 Aug 25.
6. Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iiduka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasagawa A, Kanaya Y, Oku R, Oya T, Sata T. Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection. *Mod Pathol.* 2012 Jan;25(1):1-13. Epub 2011 Aug 26.
 7. Meguro S, Tomita M, Katsuki T, Kato K, Oh H, Ainai A, Ito R, Takeda S, Kawai T, Atsumi Y, Itoh H, Hasegawa H. Plasma 25-hydroxyvitamin d is independently associated with hemoglobin concentration in male subjects with type 2 diabetes mellitus. *Int J Endocrinol.* 2011;2011:362981. Epub 2011 Jun 6.
2. 学会発表
1. 長谷川秀樹：成人 T 細胞性白血病(ATL)モデルマウスを用いた新規治療法の試み 第 100 回日本病理学会総会 2011 年 4 月横浜
 2. 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹、熊坂利夫、羽田悟、田中伸哉、笠井孝彦、鄭子文、飯塚利彦、仲里巖、樋野陽子、濱松晶彦、堀尚、田中智之、長谷川章雄、尾矢剛志、佐多徹太郎 2009H1N1 パンデミックインフルエンザウイルス感染症 20 剖検例の臨床病理学的解析 第 100 回日本病理学会総会 2011 年 4 月横浜
 3. Akira Ainai, Ryo Ito, Hideki Asanuma, Tadaki Suzuki, Takeshi Tanimoto, Takato Odagiri, Shin-Ichi Tamura, Tetsutaro Sata, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa INTRANASAL ADMINISTRATION OF 2009/10 ANNUAL INFLUENZA VACCINE INDUCE THE CROSS-PROTECTION AGAINST 2009 PANDEMIC INFLUENZA VIRUS INFECTION, XV International Congress of Virology, Sep 2011 Sapporo
 4. Elly van Riet, Akira Ainai, Ryo Ito, Tadaki Suzuki, Shin-Ichi Tamura, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa, INFLUENZA SPECIFIC IGA PRODUCING SERUM MEMORY B CELLS CORRELATE TO PROTECTIVE ANTIBODIES IN THE SERUM AS WELL AS LOCAL IGA RESPONSES, XV International Congress of Virology, Sep 2011 Sapporo
 5. Ryo Ito, Akira Ainai, Hideki Asanuma, Tadaki Suzuki, Joe Chiba, Shin-Ichi Tamura, Masato Tashiro, Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa ANALYSIS OF THE IMMUNE RESPONSES AFTER INTRANASAL BOOSTER INFLUENZA VACCINE WITH HETEROLOGOUS VIRUS PRIMING XV International Congress of Virology, Sep 2011 Sapporo
 6. Hideki Hasegawa, Akira Ainai, Elly van Riet, Tadaki Suzuki, Ryo Ito, Takeshi Tanimoto, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Tetsutaro Sata, Takeshi Kurata, Shin-Ichi Tamura, INTRANASAL ADMINISTRATION OF AN INACTIVATED WHOLE-VIRION

- INFLUENZA VACCINE EFFECTIVELY
INDUCES THE NEUTRALIZING
ANTIBODIES BOTH IN THE SERUM AND
THE NASAL WASH IN HUMAN XV
International Congress of Virology, Sep 2011
Sapporo
7. Hideki Asanuma, Mina Nakauchi, Kayoko
Sato, Eri Nobusawa, Akira Ainai, Norio
Yamamoto, Nami Konomi, Hideki Hasegawa,
Masato Tashiro COMPARISON OF
INFLUENZA A/H1N1 PDM09 VACCINE
PRODUCTIONS IN EGGS VERSUS CELL
CULTURES AND THE PROTECTIVE
IMMUNE RESPONSES INDUCE IN MICE
XV International Congress of Virology, Sep
2011 Sapporo
8. Tadaki Suzuki, Akira Ainai, Noriyo Nagata,
Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa ROLE OF
THE N-TERMINAL REGION OF THE PA
SUBUNIT IN NUCLEAR IMPORT AND
ASSEMBLY OF INFLUENZA A VIRUS RNA
POLYMERASE XV International Congress of
Virology, Sep 2011 Sapporo
9. Tatsuya Yamazaki, Yasutomo Teshima,
Daisuke Ninomiya, Maria Nagashima, Yuka
Arai, Akira Fujimoto, Akira Ainai, Hideki
Hasegawa, Joe Chiba PASSIVE
IMMUNOTHERAPY AGAINST
INFLUENZA VIRUS INFECTION USING
THE EXPRESSION OF NEUTRALIZING
ANTI-HEMAGGLUTININ MONOCLONAL
ANTIBODIES FROM PLASMIDS BY
HYDRODYNAMICS-BASED PROCEDURE
XV International Congress of Virology, Sep
- 2011 Sapporo
10. Hidekatsu Iha, Emi Ikebe, Akira Kawaguchi,
Shinya Taguchi, Akira Nishizono, Yuetsu
Tanaka, Hirofumi Sawa, Masao Ogata, Mitsuo
Hori, Jun-Ichi Fujisawa, Hideki Hasegawa
MOLECULAR CHAPERON
INHIBITOR-BASED TREATMENT
AGAINST ATL:ITS IN VITRO AND IN
VIVO EVALUATION XV International
Congress of Virology, Sep 2011 Sapporo
11. Masayuki Saijo, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki,
Noriyo Nagata, Naoko Yoshikawa, Hideki
Hasegawa, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani,
Tetsutaro Sata, Ichiro Kurane, Shigeru
Morikawa IMMUNE RESPONSES
AGAINST EEV AND IMV IN
NON-HUMAN PRIMATES INFECTED
WITH MONKEYPOX VIRUS OR
VACCINATED WITH A HIGHLY
ATTENUATED SMALLPOX VACCINE
LC16M8 AND PROTECTION FROM
LETHAL MONKEYPOX XV International
Congress of Virology, Sep 2011 Sapporo
12. Noriyo Nagata, Naoko Iwata, Hideki
Hasegawa, Yuko Sato, Shigeru Morikawa,
Tetsutaro Sata, INTERFERON GAMMA
PROTECTS ADULT BALB/MICE FROM
LETHAL RESPIRATORY ILLNESS AFTER
MOUSEADAPTED SARS-COV
INFECTION XV International Congress of
Virology, Sep 2011 Sapporo
13. 長谷川秀樹 感染防御に効くインフルエ
ンザワクチンを目指して 第15回日本ワ

クチン学会学術集会 2011 年 12 月東京

14. 相内章、浅沼秀樹、谷本武史、小田切孝人、
田村慎一、田代真人、長谷川秀樹 2009/10
季節性インフルエンザワクチンの経鼻投
与による A/H1N1pdm09 ウイルスの感染防
御第15回日本ワクチン学会学術集会 2011
年 12 月東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得（出願）

特許第 4817625 号 粘膜免疫誘導アジュ
バントを含む新規ワクチン 登録日平成
23 年 9 月 9 日

2. 実用新案登録

なし