

201123045A

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

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 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 田代真人

平成 24 年(2012)3 月

目 次

平成 23 年度

I 総括研究報告書

- 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..... P. 1
研究代表者：田代真人

II 分担研究報告書

1. ウイルスの宿主域規定要因と人への順化機構、ウイルス病原性の分子基盤の解明..... P. 20
研究分担者：河岡義裕
2. 蛍光タンパク質再構成法を用いたインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ形成機構の解析..... P. 22
研究分担者：長谷川秀樹
研究協力者：鈴木忠樹、相内 章
3. 高病原性鳥インフルエンザの流行に備えた薬剤耐性株の安全な感受性試験系の構築とその評価に関する研究..... P. 29
研究分担者：小田切孝人
研究協力者：高下恵美、高山郁代
4. オセルタミビル耐性株と感受性株の割合検出法の構築およびブタ由来 A/H3N2 亜型インフルエンザウイルス特異的検出系の構築について..... P. 34
研究分担者：影山 努
研究協力者：高山郁代、中内美名
5. 鳥型からヒト型への変異に関する分子基盤とその監視技術の開発..... P. 39
研究分担者：鈴木康夫
6. ウイルスの伝播経路の解明、鳥インフルエンザの疫学と人への感染機構..... P. 43
研究分担者：西藤岳彦
7. 被災地におけるインフルエンザ流行に関する検討..... P. 46
研究分担者：押谷 仁
研究協力者：鈴木 陽、神垣太郎、当広謙太郎
8. 動物インフルエンザウイルスがパンデミックウイルスに変異するメカニズムの解析..... P. 50
研究分担者：堀本泰介

III 研究成果の刊行に関する一覧表..... P. 53

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

研究代表者 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長

研究要旨 甚大な健康被害と社会的影響という最悪のシナリオで起こる H5N1 強毒型パンデミックの出現リスクは、予想外に高いことが強く示唆されている。現在の鳥型ウイルスがヒト型に変異する分子機序に基づいた、動物とヒトでのサーベイランスの実施とリスク評価方法を確立する必要がある。そのために、鳥型ウイルスがヒト型に変化する機序の解明とリスク評価のための対象項目を検討し、10 項目についてその意義づけと絞り込みを行った。今後、この結果に基づいてパンデミックのリスク評価方法を確立し、未曾有の危機状況に対する危機管理体制の再構築、即ち、具体的な事前準備と緊急対応計画の再検討とその実施が緊急課題である。また、(H1N1)2009 パンデミックおよび東日本大震災の教訓から、H5N1 等の強毒型パンデミックにおける健康・社会危機事態において、行政による有効な緊急危機管理計画を迅速かつスムーズに実施出来るように、法的基盤の確立を提言した。

A. 研究目的

過去の新型インフルエンザ大流行では、トリ型ウイルスがブタを介してヒト型ウイルスに変化して出現し、大きな健康被害と社会・経済への影響をもたらしてきた。新型インフルエンザ大流行による健康被害を最小限に留め、社会・経済機能を維持するためには、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確立する必要がある。

2009 年に出現したブタウイルス由来の H1N1 パンデミックは多くの専門家にとって予想外であったが、その出現経過は解明されていない。新型ウイルスが弱毒型であったこと、多くの人が新型ウイルスに対する共通防御免疫を持っていたこと等の幸運が重なって、大きな健康被害も生じず、社会的影響も軽微に終始した。そのため、従来の新型インフルエンザ事前準備と緊急対応計画と実施における問題点が十分に反省されず、必要な危機対応体制の抜本的な再構築が曖昧とな

っており、強毒型 H5N1 等の重大な新型インフルエンザに対する対策が後退してことが懸念されている。

一方、2003 年以来世界で拡大中の H5N1 高病原性鳥インフルエンザは、既に鳥の間に定着して、H1N1 パンデミックとは独立して流行を続けている。鳥における流行は依然制圧される見通しは無く、更にブタにおける不顕性感染も確認されており、何時でも新型インフルエンザが出現して大流行することが危惧されている。その際には、全身感染とサイトカインストームによる多臓器不全という、「インフルエンザ」の概念を超える致死的重症疾患の可能性もある。その結果、多数の患者、死亡者が出て、医療サービスの崩壊などの健康危機が危惧される。さらに、2 次的な交通・物流機構の麻痺による食糧やエネルギー供給のライフラインや社会サービスなどが低下し、社会・経済機能や治安体制の破綻、更には地球レベルの危機が懸念されている。

本研究は、H1N1 パンデミックにおける反省・教訓に基づき、地球レベルの視点に立って、新型インフルエンザ大流行の際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、①新型インフルエンザの出現予知と早期検知方法および流行動向監視方法の開発、②ウイルスの迅速性状解析に基づく大流行の可能性・被害予測のリスク評価法の確立、③緊急ワクチン開発・製造・供給及び効果・副作用の予測とモニター、④抗ウイルス剤の備蓄と使用方法及び効果・副作用・耐性ウイルスの予測とモニター、⑤感染病理機構の解明とそれに基づいた適切な治療方法の開発、などの時系列的な緊急対策・行動計画の策定とその実施に必要な理論的、技術的基盤と実用化応用を確立する。

この研究によって、新型インフルエンザ出現および大流行の可能性の予知と早期検知、健康被害の程度の推定に関する科学的なリスク評価、およびそれに基づく基本的な危機対応の実施が可能となり、限られたリソースの中で、重複や無駄を省いた必要かつ十分な事前準備と緊急対応計画の策定および実施が期待される。

研究組織

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長
河岡義裕	東京大学医科学研究所分子生物学部門教授
長谷川秀樹	国立感染症研究所感染病理学部長
小田切孝人	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第1室長
影山 努	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第2室長
鈴木康夫	中部大学生命健康学部ウイルス学生化学教授
西藤岳彦	(独)動物衛生研究所人獣感染症研究グループ長
押谷 仁	東北大学医学部大学院微生物学教授
堀本泰介	東京大学農学部大学院獣医微生物学

教授

B. 研究方法

3年間の研究目的を達成するために、各研究分担者が協力しながら、以下の研究を並行して進めた。各研究の方法については、分担研究報告に記載されている。

1) 新型インフルエンザ出現の分子基盤解明 (田代、河岡、小田切、鈴木、堀本)

インフルエンザが宿主域を越える伝播機構について、鳥、ブタ、ヒト間のウイルス伝播の違いに関わるウイルス因子と宿主因子の同定。

①レセプター特異性とその規定要因 (ウイルスHA分子のレセプター結合部位およびその構造に影響するアミノ酸置換、およびこれに対応する鳥、動物およびヒト細胞のレセプター糖鎖構造の違い、ウイルス糖タンパクのレセプター結合特性と宿主細胞レセプターの結合を、分子レベル、電子レベルで解析し、宿主域を超えるための分子基盤を検討した。

②宿主域の規定要因として、鳥、ブタ、ヒト型ウイルスにおけるRNAポリメラーゼの機能構造の違い、対応する宿主補助因子との適合性、ウイルス増殖の至適温度との関係、ウイルスRNAポリメラーゼ活性発現に影響する宿主因子の違いを、鳥、ブタ、ヒトについて解析し、種特異性を規定する宿主およびウイルス側の遺伝子変異を検討した。

③異なる動物を宿主とする各ウイルスに共通するアミノ酸変異の違い、異なるアミノ酸残基を検討し、ヒト型ウイルスに変化するための必要なアミノ酸置換の特定を検討した。

④鳥および豚インフルエンザウイルスがヒトに馴化して、人一人感染伝播能力を獲得する分子機構と許容条件を検討した。

2) 新型インフルエンザ出現予測方法の検討 (田代、河岡、小田切、押谷、堀本)

1997年以來のH5N1ウイルスについて、上記の変化を比較検討し、最近のウイルスがどの程度ヒト型に近付いているのか、パンデミックを起こす

可能性があるのかを監視する標的を検討し、種を超える遺伝子監視方法論の確立をめざした。これに基づいた監視体制の確立とリスク評価方法を検討した。

3) 新型インフルエンザ出現・流行動向監視体制の確立 (影山、押谷)

現行の病原体サーベイランス体制を再検討、修正、拡充し、必要な試薬、標準品、抗体、プライマーの事前作製、改良等により、新型ウイルスの早期検知と同定、流行動向に対する調査・監視体制を検討した。

4) 新型ウイルスの性状解析と緊急ワクチン開発方法の確立および製造・供給・接種体制及び効果・副作用のモニター体制の整備 (小田切、長谷川)

新型候補ウイルスと新型ウイルスについて、抗原エピトープ、遺伝子塩基配列、糖鎖構造を迅速かつ詳細に解析する方法の開発を検討した。これらの情報に基づいて、リバース・ジェネティクスを駆使して、任意の弱毒化ウイルス製造株の作製が1週間程度で可能となる体制の構築を進めた。一方、ワクチン株の安全性と免疫原性を迅速に検証する試験法を開発し、新型ワクチンの品質管理に応用する体制を検討した。さらに、短期間におけるワクチン大量製造、供給体制と接種体制の構築を進めた。

5) 鳥および豚インフルエンザウイルスおよび新型ウイルスのヒトに対する感染病理機構の解明 (河岡、長谷川、西藤、堀本)

ヒトに対する鳥およびブタの H5N1 インフルエンザウイルス感染の発症病理機構を検討し、全身臓器にも感染が起こること、サイトカイン・ケモカインの産生異常がおこり多臓器不全をもたらすことを、動物レベル、細胞レベル、分子レベルで検討した。また、ヒト型に変化しても強毒性は維持される可能性を検討した。

6) ウイルス感染患者における重症化分子機構の解明 (長谷川、押谷)

H1N1 および H5N1 ウイルスによる重症患者、死亡患者と、軽微に経過した患者について、ウイル

ス性状の違い、宿主応答および関連遺伝子の違いを解析し、重症化に関わるウイルス要因および宿主要因検討した。その基盤に立って、ウイルス変異の監視における標的およびリスク評価方法を検討した。

7) 次世代の新型インフルエンザワクチンの開発研究 (田代、長谷川、河岡)

新発想の有効かつ安全なインフルエンザワクチンの開発を行い、新型ワクチンにも即応できるように準備するために、製造期間を大幅に短縮できる細胞培養ワクチンの本格的開発を進めた。ワクチン製造のためのシードウイルス開発のために、患者検体から培養細胞を用いて分離されたウイルスについて安定性、適格性を担保する方法を検討した。

また、新規粘膜アジュバントを用いた経鼻接種ワクチンの開発を進め、臨床試験への基盤を検討した。全粒子不活化ワクチンに TLR-3 や TLR-7 を刺激する合成アジュバントを結合させたワクチンの経鼻投与により、広い範囲に交叉する局所粘膜免疫を誘導する新しいワクチンの臨床応用に向けて動物レベルでの効果、安全性を検討した。

8) 抗ウイルス剤の備蓄および使用方法の確立及び効果・副作用・耐性ウイルスのモニター体制の整備 (田代、河岡、小田切、押谷)

新旧のノイラミニダーゼ阻害剤および新規抗ウイルス剤について、耐性ウイルスの出現機構を分子レベルで解析した。これに基づいて耐性ウイルスのモニター方法の確立を目指して、体系的かつ効率のよいモニター体制のあり方を検討した。

9) 動物におけるインフルエンザの動向と新型インフルエンザ出現リスク評価 (田代、河岡、西藤、堀本、影山)

2008 年の後半になって患者報告数は減少傾向にあるものの、世界各国の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、かえって新型インフルエンザ出現の危険性が高まったと考えられる。そこで、鳥ワクチン接種の影響を検討した。

また、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だれてきた。そこで、H7N3, H9N2, H6N1, H2N2 などの亜型についても、リスク評価を行った。

(倫理面への配慮)
特に該当項目はない。

C. 研究結果

1) 新型インフルエンザ出現および被害状況に対するリスク評価方法の検討

動物インフルエンザウイルスのヒト型への変化およびその際の健康被害・社会への影響の程度を左右する可能性のある、多くのウイルス学および疫学的パラメーターについて、①ヒト型ウイルスへの変化とパンデミック出現のリスク評価方法および②健康被害と社会的影響の各リスク評価のための評価項目として評価を行った。その結果、以下の 10 項目のリスク評価項目を重要項目として絞り込んだ。更に、これらの項目について、高度、中程度、程度のリスク評価の基準を検討した。

今後、これらの項目について、更に幅広い評価をおこなうとともに、①および②のリスク評価に際して、それぞれの項目について相対的な「重みづけ」を行い、これらを点数によるスコア化すること、およびこれを用いたパンデミックリスク評価ツール（アルゴリズム）の開発を進める計画である。

Elements for Pandemic Influenza Risk Assessment Algorithm Tools

1. Genomic Variation

For the purposes of the risk assessment tool, genomic variation is defined as increased genetic diversity of animal influenza viruses or presence of known molecular markers of virulence. Criteria to consider would include:

genetic reassortment, the nature of the genes involved or presence of molecular signatures of importance for human infections and disease

Low Risk

Contains these three factors:

1. Very closely related in all gene segments to known host adapted animal viruses of low risk
2. No reassortment or reassortment with closely related viruses
3. Absence of known molecular signatures of importance for human infections and disease

Moderate Risk

Contains one of the below factors:

1. Divergence in any gene segments as compared to known host adapted animal viruses of low risk
2. Reassortment between different lineages and/or subtypes
3. Molecular signatures of importance for human infections and disease

High Risk

Contains two or more of the below factors:

1. High divergence in any gene segments to known host adapted animal viruses of low risk
2. Reassortment between different lineages and/or subtypes
3. Molecular signatures of importance for human infections and disease

Notes: Antiviral resistance is not captured in this element

2. Receptor Binding

For the purposes of the risk assessment tool, receptor binding preference as a risk element for pandemic emergence is defined as a virus binding to glycans with sialic acid in $\alpha 2,6$

linkage to galactose.

Low Risk

Aquatic bird-like receptor binding specificity; i.e. glycans with α 2,3 galactose-linked sialic acid and lack of binding to α 2,6 galactose-linked sialic acids

Moderate Risk

Dual receptor binding specificity; i.e. glycans with α 2,3 galactose and α 2,6 galactose linked sialic acids

High Risk

Human-like receptor specificity; i.e. binding primarily to α 2,6 galactose-linked sialic acid receptors

3. Transmission in Animal Models

For the purposes of the risk assessment tool, risk of human-to-human transmission is defined as transmission of animal influenza viruses in one or more accepted animal model(s) by direct contact and/or through respiratory droplets in the absence of direct contact

Low Risk

No evidence of transmission in accepted animal models of human transmissibility

Moderate Risk

Consistent transmission to contact animals co-housed with other animals inoculated by the intranasal route in addition to lack of transmission by respiratory droplet

High Risk

Consistent transmission in animal models by respiratory droplet

Notes: Criteria considered for this Element:

Spatial – geographic

Temporal – slow, rapid spread

Management

Movement controls and other biosecurity features

Live poultry markets and other commingling events

Vaccination

Assumptions same as in Infections in Animals element:

1. Greater risk within species transmission
2. Increased risk of a virus with pandemic potential the greater the within species transmission
3. Increased risk of a virus with pandemic potential the more transmission there is between species
4. Increased risk of a virus of pandemic potential with increased animal species contact with humans
5. Increased risk of a virus of pandemic potential associated with reverse transmission from humans to animals

Research Issues:

1. Standardization of protocols for 'Natural' exposure in a lab setting because many field variables impact infection and transmission

4. Global Distribution

Global distribution of animal influenza viruses: The element of global distribution of animal influenza viruses is defined as spatial and temporal distribution of animal influenza viruses, and the impact of animal production and/or management systems on spread among animal population and potential exposure to

humans.

Low Risk

Distribution of the virus is local and contained as defined by:

1. In outbreak settings, epidemiological links are made between the positive index location and additional positive locations,
or
2. Virus is found in only one management system or compartment [ex1- commercial sector 1 poultry; ex2 - wild birds only],
or
3. Spread is contained [ex: among domestic poultry the detection of H5 or H7 often results in culling of infected/exposed birds and/or vaccination]

Moderate Risk

Distribution of the virus is regional and within well-defined geographic boundaries or territories as defined by:

1. Distribution of the virus may be explained by movement of animals due to commerce or migratory patterns,
or
2. The virus can be found in more than one clearly defined animal subpopulation compartment [ex: wild birds and domestic poultry],
or
3. Spread is at a slow or low rate [ex: infected animals moving during fair season]

High Risk

Distribution is widespread without clearly defined geographic or territorial boundaries [ex: live poultry markets and households] as defined by:

1. Distribution in multiple regions or new

areas without obvious explanation for such movement,

or

2. Virus is considered ubiquitous in domestic animal populations and population density and management factors do not effectively contain the virus [ex: SIV],

or

3. Spread can be rapid [ex: infected animals large numbers of birds being moved in preparation for the holidays such as Lunar New Year; swine in the U.S. moving from Southeast for grow out in the midwest]

Notes:

Evaluation criteria:

Species infected

Wild birds

Domestic poultry

Mammals - species of mammals

Sustained natural transmission of animal influenza viruses

Within an individual species

Between avian species

Between avian and mammalian species

Between mammalian species

Potential extent of exposure between infected animal species and humans

Potential for reverse transmission from humans to animals

Assumptions - Increased risk of pandemic potential:

1. Increased risk of a virus with pandemic potential the greater the within species transmission
2. Increased risk of a virus with pandemic potential the more transmission there is between species
3. Increased risk of a virus of pandemic

potential with increased animal species contact with humans

4. Increased risk of a virus of pandemic potential associated with reverse transmission from humans to animals

Research Questions:

1. Studies being conducted include:
experimentally infecting swine with currently circulating swine viruses and human origin swine viruses to examine their characteristics
2. Need high biocontainment experiments looking for natural reassortments of animal and human influenza viruses

Side comment:

1. Need to create a list of definitions for the tool
2. Define: "animal" to include birds and all non-human mammals
3. Define: "novel" human influenza virus

5. Infections in Animals

The element of animal species is defined as the ability of the virus to naturally infect animal species, the number and diversity of those species, and the ability to maintain sustained natural transmission in those populations, and the potential extent of exposure between humans and those animal species

Low Risk

Sustained transmission in wild species (increased risk associated with species whose behavior patterns bring them into frequent contact with humans; ex: mallards/ducks)

Moderate Risk

- Limited outbreaks or sporadic disease in

poultry or mammals

- Infected mammals, but without potential for mass exposure of humans [ex: feral mammals, dogs, cats]
- Sustained transmission in a limited number of host species (increased risk associated with infection in multiple species)

High Risk

- Endemicity established in an animal species
- Endemicity established in species with close contact to many humans (ex: infected animals at agricultural events [eg. Fairs, live markets, swap meets, etc], zoos and other animal collections, households)
- Sustained transmission in multiple number of host species (increased risk associated with infection of multiple mammalian species)

6. Antivirals and Treatment Options

For the purposes of the risk assessment tool, antiviral susceptibility refers to the predicted or demonstrated efficacy of available antiviral agents against animal influenza viruses

Low Risk

No evidence of clinically relevant resistance to any of the antiviral drugs approved for human use (neuraminidase inhibitors and M2 blockers)

Moderate Risk

Sensitive to all neuraminidase inhibitors but resistant to M2 blockers

High Risk

Resistance to one or more neuraminidase inhibitor antiviral drugs

7. Human Infections

The element of human infection is defined as the occurrence of human infections with animal influenza viruses, the frequency of these human infections and the extent of human-to-human transmission of these viruses

Low Risk

No known human cases/infection with animal influenza viruses,
And subtypes with no known history of human pandemics

Moderate Risk

Isolated human cases; sporadic cases, with epidemiologic links to other human cases or animal sources, or
Subtypes with a history of human pandemic,
And rare human-to-human transmission

High Risk

Several simultaneous clusters of human infections with animal viruses in multiple geographic locations,
and,
Large numbers of separate clusters, multiple cases in each cluster with or without epidemiologic link,
Or, confirmed, multiple generations,
human-to-human transmission (non-sustained)

Notes:

Criteria:

- Frequency of human cases of infection with an influenza strain not currently circulating in humans (novel virus)
- Human to human transmission of an influenza strain not currently circulating in humans (novel virus)
- Influenza subtype has caused an

influenza pandemic in the past

- Geographic distribution of cases in humans -Focal vs. local vs. widespread

Assumptions:

1. Risk associated with subtypes that are known to have caused pandemics in past
2. Reported clinical human infections with an influenza strain not currently circulating in humans (novel virus) are rare and identification of human infection depends on the sensitivity of surveillance

8. Disease severity

For the purposes of this risk assessment tool is defined as the spectrum of illness with infection by a novel influenza A virus in humans, or in experimentally infected animal models as a surrogate for human disease

Low Risk

- No known evidence of human disease
- No disease in experimental animal models (ferrets, primates) e.g. no weight loss in ferrets inoculated by intranasal route with 10^6 pfu

Moderate Risk

- Uncomplicated human illness (e.g. influenza-like illness) or other mild signs and symptoms (e.g. conjunctivitis) documented with infection.
- Mild, non-fatal disease, or infrequent severe disease demonstrated in experimental animal models (ferrets, primates) e.g. Up to 10% weight loss and <20% mortality in ferrets inoculated by intranasal route with 10^6 pfu.
- HA cleavage site of avian influenza

subtypes containing multiple basic amino acids or HA cleavage site containing multiple amino acid insertion or an IVPI of ≥ 1.2 .

High Risk

- Severe (lower respiratory tract disease) or fatal human illness documented with infection e.g. early indications of a case fatality rate of $>2\%$.
- Severe or fatal disease demonstrated in experimental animal models (ferrets, primates) e.g. $>10\%$ weight loss and $>20\%$ mortality in ferrets inoculated by intranasal route with 10^6 pfu.

Notes:

Background:

This element deals only with the risk of an emerging virus resulting in severe human disease. However, prior to the emergence of a pandemic virus, information on disease severity in humans will be limited. Animal models may provide early an indication of disease severity. While there are a variety of experimental animal models to assess severity for human disease, the ferret and non-human primate models are recognized to better represent human disease. However, the study of naïve animals may overestimate disease severity in human populations with some level of pre-existing immunity.

Caveats:

1. Disease severity here is considered for the general population and may not reflect severity in certain sub-populations including pregnant women, indigenous populations or those who are obese or who have underlying medical conditions

2. There is a need for standardized SOPs for experimental animal models
3. Histopathology changes and/or virus isolation in extrapulmonary sites in animal models would be an indicator of increased risk
4. Naturally occurring outbreaks of severe disease in mammals would be an indicator of increased risk of severity
5. Assessing the extent of human infection with novel animal influenza viruses through serological studies will provide information on the overall risk of severe disease

Research Questions:

1. Investigate other animal models of disease severity (e.g. pigs)
2. Enhanced investigational responses in animal-to-human and human-to-animal influenza virus outbreaks

9. Population Immunity

Population immunity in humans for the purposes of this risk assessment tool is defined as the detection of pre-existing cross-reactive serum antibodies acquired through prior infection and/or vaccination in all age groups

Low Risk

Evidence of cross-reactive antibodies in at least 30% of the population in all age groups except for children ≤ 17 years of age

Moderate Risk

Evidence of cross-reactive antibodies in at least 30% of the population among persons ≥ 50 years of age

High Risk

Minimal evidence ($<10\%$) of cross-reactive antibodies for all age groups

Notes:

Background:

Immunity is complex and mediated by both humoral and cell-mediated immune responses, but may provide some level of cross-protection while vaccines are being developed. Currently, other immune responses, including anti-neuraminidase antibodies and cell-mediated responses are more difficult to assess, however standardized assays exist for measurement of neutralizing antibodies (HI and virus neutralization) and are a reasonable way to assess the level of protection existing in the human population. An HI titer of 40 or more in traditional HI assays is associated with a 50% or more reduction in infection or disease in susceptible populations. No such immune correlate of protection exists for neutralizing antibody titers.

Criteria:

Serum cross-reactive antibodies to the virus under study as measured by the HI or virus neutralization assay. For the HI, this would be titers of 40 or more which have been associated with protection against seasonal viruses. For the VN assay, this would be titers that correlate with an HI titer of 40 or more. Assays should be conducted using standardized methodologies and with appropriate internal standards for quality assurance.

Caveats:

- While an HI titer of 40 or more is a useful measure for population studies, it is possible that any detectable antibody may ameliorate disease
- Need to consider differences in global demographics
- Evaluation of human serum panels based

on vaccination with and without adjuvants should be performed

Research Questions:

- Epidemiologic studies to confirm that HI titer data are correlated with protection against infection for novel viruses
- Studies to define the level of protective immunity from measures other than HI antibody
- The ability to distinguish protection from natural infection versus that conferred from immunization is important to better assess population immunity
- Seroprevalence studies to confirm what proportion of immunity in the population will confer herd immunity
- Determination of neuraminidase antibody levels that are associated with protective immunity using standardized assays
- Investigation of the relationship of disease severity and pre-existing titer. Can severity be predicted?

10. Antigenic Variation

Antigenic variation for the purposes of this risk assessment tool is defined as antigenic relatedness measured by the hemagglutination-inhibition (HI) or virus neutralization (VN) tests with post-infection ferret antiserum to emerging virus and seasonal vaccine and reference viruses

Low Risk

- viruses that show a high degree of antigenic relatedness to seasonal vaccine or reference viruses
- 4-fold difference OR LESS in homologous/heterologous titer in a 1-way HI or VN test

Moderate Risk

- viruses that show some degree of antigenic relatedness to seasonal vaccine or reference viruses
- 8 TO 16-fold difference in homologous/heterologous titer in 1-way HI or VN test

High Risk

- viruses that show no antigenic relatedness with seasonal vaccine or reference viruses
- >16-fold difference in homologous/heterologous titer in 1-way HI or VN test

Notes:

Background:

Antigenic variation of influenza A viruses is a primary mechanism for perpetuation of the virus and presents a significant challenge in the development of vaccines. The most effective immunity is neutralizing antibodies targeting the hemagglutinin protein, which is also the most variable. A major concern for considering influenza viruses with pandemic potential is whether they are antigenically related to a candidate vaccine virus. A primary method for evaluating the antigenic variation among potentially pandemic viruses is to test them in virus neutralization or hemagglutination-inhibition (HI) tests with use of a set of ferret antisera raised against seasonal vaccine viruses and reference viruses along with ferret antisera raised against the newly emerged potential pandemic viruses as they become available. The basis for this measurement is a vast experience in the bi-annual vaccine strain selection process. It is also likely to be one of the earliest indicators of antigenic variation and the emergence of a

novel virus.

Criteria:

The earliest method for evaluating the antigenic variation among potentially pandemic viruses is to test them in VN or HI tests with use of a set of ferret antisera raised against vaccine candidate viruses and reference viruses

Caveats:

- Antigenic relatedness to pre-pandemic vaccine viruses should be evaluated for risk management purposes.
- There is some overlap in this Element with respect to the Element on Population Immunity but this element would provide early information on antigenic relatedness
- The data may only support a dichotomous outcome of low and high risk. Low risk would be defined as ≤ 8 -fold difference and a high risk would be defined as a ≥ 16 -fold difference in a 1-way HI or virus neutralization test.
- Additional information on antigenic relatedness will be achieved when ferret antisera raised against the newly emerged viruses are available for 2-way testing.

(2) 鳥型 H5N1 ウイルスは僅か数カ所の遺伝子変異により容易にヒト型になり得ること、しかも、高い病原性が保持される可能性も高いことが示唆され。最悪のシナリオは現実的に起こり得ることを示した。

(3) ベトナムの H5N1 同一患者から、異なる日に得られたウイルス、あるいは異なる部位から得られたウイルスの塩基配列を比較確認した結果、感染直後に患者体内で変化したと思われる患者固有の特異的アミノ酸変異と、感染後の日数変化に伴い出現したアミノ酸変異を確認した。

(4) 蛍光タンパク再構成 (BiFC) 法を用い、生細胞内でインフルエンザウイルスのポリメラーゼ複合体形成と核内輸送を同時に評価できるシステムの構築に成功した。

(5) H5N1 鳥インフルエンザウイルスに対する抗インフルエンザ薬 (タミフル、ラピアクタ、リレンザ、イナビル) 感受性試験系の構築に成功した。

(6) 既に構築済みの A、B 型、H1pdm、H3、H5 亜型ウイルスの遺伝子検出検査法を評価した結果、最新の季節性および H5N1 鳥インフルエンザの流行株の高感度かつ特異的な検出を確認できた。

(7) 米国で散発発生中の H3N2 ブタインフルエンザウイルスの同定法を構築した。

(8) 鳥型ウイルスのヒト型受容体シアロ糖鎖認識の変異を簡便に検出する ELISA およびイムノクロマト技術を開発した。

(9) 抗インフルエンザ活性を細胞レベルで迅速にアッセイする新規方法を開発した。

(10) 昨冬の国内 HPAI の起因ウイルス 24 株について赤血球凝集素 (HA) 遺伝子の全塩基配列を決定し解析した。

(11) 社会・経済機能が破綻した東日本大震災直後の宮城県内インフルエンザ流行動向監視により、避難所内でのインフルエンザ伝播知見を収集。問題点と教訓の総括と提言した。

(12) わが国で野生化したアライグマの H5N1 ウイルスに感染を解明し、ヒトへの感染リスクとパンデミック出現に対する中間宿主としての可能性を指摘した。

(13) 家庭動物 (ペットイヌ、ネコ) がヒト型インフルエンザウイルスに感染することを解明し、インフルエンザにおける新たな人獣共通感染経路を示唆した。

(14) 東日本大震災と福島第 1 原発事故における「想定外」問題の教訓に基づいて、新型インフルエンザ準備計画における「想定」を再検討した。平成 23 年 9 月 20 日に内閣閣僚会議で決定された新型インフルエンザ対策行動計画に記載されている「想定される最悪のシナリオ (致死率 2%)」は、強毒型 H5N1 パンデミックで想定される被害

に比べて、遥かに楽観的な数値であり、さらに厳しい状況を想定した準備・緊急対応が必要である。

(15) 新型インフルエンザ対策行動計画の改定に伴って、新型インフルエンザ対策ガイドラインの見直しが検討されたが、この再検討は、厚労省のもとで、主に健康・公衆衛生の専門家によって進められたものであり、しかも現行の法体制、規則等の範囲内で可能な準備・対応を検討するという縛りがあった。しかし、パンデミックは健康問題を超越する社会危機管理の問題でもあることから、様々な分野の専門家による幅広い領域におけるガイドラインの策定が不可欠である。また、現行の法律・規則等では効率よく対処できない事項も多いので、法律の改正等も当然必要となってこよう。従って、内閣官房が指導力を発揮して、すべての関係する省庁・関係機関等を包括した国の健康危機管理ガイドラインの作成が必要である。

(16) (H1N1)2009 パンデミックにおける行政による政策決定過程、緊急対応の実施、その効果と影響等を検討した結果、我が国における健康危機管理体制の基盤が欠落していることが示した。それに基づいて、H5N1 などの重篤なパンデミック発生時における危機管理に対処して、円滑かつ効果的な対応を実施するためには、危機管理対応に関する法的基盤の整備が必要であることを提言した。その結果、内閣官房において、新型インフルエンザ対策特別措置法 (仮) の策定が進められることとなった。

D. 考察

[鳥、ブタ、ヒトのインフルエンザ]

A 型インフルエンザはカモなどの渡り鳥を起源とし、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。元来自然界での鳥型ウイルスは弱毒型で、腸管や呼吸器の上皮に限局した不顕性局所感染に留まる。しかし、H5 と H7 亜型では、家禽の間での流行中に、遺伝子変異によって強毒型に変化する場合があります、全身感染を起こしてほぼ 100% の家禽を殺すことになる (高病原性鳥インフルエンザ)。

ブタは鳥とヒトの両方のウイルスに感染しやすく、これらに起源をもつブタ型ウイルスを維持しており、さらに、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いる。鳥やブタのウイルスとヒトのウイルスがブタに同時に感染すると、遺伝子分節の交雑が起こるために、鳥型ウイルスの抗原性を持ったヒトの新型インフルエンザウイルスが誕生する。1957年のアジアかぜ、1968年の香港かぜはブタの体内でこのような遺伝子分節の交雑が起こった結果と考えられている。

一方、ヒトの季節性インフルエンザウイルスは、鳥由来の弱毒型ウイルスが直接またはブタを介して、遺伝子変異によってヒト型に変化し、新型インフルエンザとして大流行したものの子孫である。これらのヒト型ウイルスはヒトにおいても弱毒型であり、「インフルエンザ」と言う呼吸器上皮に局限した急性呼吸器感染症を起こす。

[新型インフルエンザ大流行]

鳥やブタのウイルスがヒト型ウイルスに変化すると、多くのヒトがこの新型ウイルスに対して免疫を持っていない場合には、パンデミックを起こして大きな健康被害と社会的影響をもたらす。20世紀に3回起ったパンデミックと21世紀最初のパンデミック(H1N1)2009など過去の大流行は、すべて弱毒型の鳥やブタのウイルス由来だったが、1918年のスペインかぜでは、当時の世界人口18億人のうち2~5千万人以上が死亡した。現在地球人口は70億人に増加し、高速大量輸送などで生活環境は大きく変化した。今後起こる新型インフルエンザは、短期間に集中的な大流行を起こし、膨大な健康被害と二次的な社会機能、経済活動の破綻が生じると危惧される。医療サービス、交通、物流、食糧やエネルギー供給、治安維持など社会機能の維持が特に問題となる。更に、現在流行中の強毒型鳥 H5N1 ウイルスに由来するパンデミックが発生した際には、1億5千万人を超える膨大な死亡(致死率5~15%)と社会機能・経済活動の破綻が危惧されている。

新型インフルエンザ大流行による社会危機状況に対しては、最悪のシナリオを想定した、国による十分な事前準備と有効な緊急対応が必須となる。不適切な甘い「想定」に基づき、「想定外」に対する準備・対応を怠ってきたことは、2012年の東日本大震災からの重い教訓である。従って、平成23年9月20日に新型インフルエンザ対策閣僚会議で決定された新型インフルエンザ対策行動計画については、科学的基盤に立ったリスク評価に基づいた「最悪のシナリオ」の再検討が必要である。また、これに沿った新型インフルエンザ専門家会議による新型インフルエンザ対策ガイドラインの見直しに係る意見書も、再検討されるべきである。

一方、国による対策計画を実施可能にするためには、国の実施権限と地方自治体や民間・諸機関に対する協力要請・指示などに関する法的基盤が必要である。我が国には、これらが欠落していることが、(H1N1)2009パンデミックからの重要な教訓の一つである。そこで、国家危機・社会危機などの緊急事態に対する国民保護法や災害対策基本法などと同様の、健康危機管理に関する基本法の必要性を提起した。その結果、国においては、新型インフルエンザ特別措置法(仮)の整備が検討中である。

[H1N1(2009)新型インフルエンザ]

2009年の新型インフルエンザウイルス(H1N1)は、北米系統のブタウイルス(3重交雑体)にユーラシア系統のブタウイルス(H1N1)の遺伝子が交雑した結果、ヒトでの感染伝播力を獲得したものであり、HAタンパクの抗原性はスペインかぜウイルスとの共通性を保持していた。遺伝子はすべて弱毒型ウイルスに由来しており、強毒性を示す遺伝子は見つかっていない。したがって、感染患者では、強毒型 H5N1 で見られる重症肺炎やサイトカインストームの発生は稀であり、全身感染は起こさなかった。

患者の大半は季節性インフルエンザ程度の軽症に留まり、全体の致死率は低かった。日本では重症化、死亡例が特に少なく、妊婦死亡の報告も無

い。公衆衛生上の対応や医療アクセスの良さと、抗ウイルス剤による早期治療の効果が指摘されている。しかし、季節性インフルエンザに比べて、小児を中心に肺炎や脳症（サイトカインストームに起因）、気道アレルギー症状の発生頻度が高かった。動物実験でも肺炎を起こしやすいので、未同定の病原性遺伝子の存在も否定できない。国内外の重症例や死亡例からは、HA タンパクに D222G 変異を持ち、肺で増殖し易いウイルスが分離されている。これらは其々の患者の体内で変異を起こして出現したと考えられるが、このような病原性が高まったウイルスの伝播性は低く、市中での流行は起こらなかった。

新型ウイルスは、出現 1 年半後には季節性インフルエンザに移行したが、3 年後でも抗原変異はほとんど起こっておらず、新型ワクチンは依然有効である。タミフル/ペラミビル耐性ウイルスの検出率は約 1 % と低いが、主に免疫抑制患者に対する予防投与や長期治療中に検出されており、不必要な投与は避けるべきだろう。一方、リレンザ/イナビルに対する耐性ウイルスはほとんど報告されていない。

ブタウイルス由来の新型 H1N1 ウイルスは、幾つかの鳥型ウイルスの性質を保持しており、未だ完全なヒト型には変化していない。内部タンパクでは、PA タンパクの 1 カ所のアミノ酸置換を除き依然ブタ型である。HA タンパクは主にヒト型レセプターに結合でき、また増殖至適温度はヒトの体温にあるが、一部には鳥型レセプターが存在する肺胞上皮に感染して肺炎を起こす性質を保持または再獲得している。ヒトからブタ、ネコ、イヌなど様々な動物への感染も起こるが、逆方向の伝播報告はない。

70 歳以上の方は、スペインかぜウイルスの子孫として 1947 年まで流行し、抗原性がスペインかぜウイルスと近縁だった過去の季節性 H1N1 型ウイルスの感染を経験しており、ブタウイルス由来の新型(H1N1)pdm09 ウイルスに対する交叉性の血清抗体を持っていた。それより若い人は、このスペインかぜウイルス類似ウイルスの感染を受け

ていないので、血清抗体は検出限界以下であった。しかし、スペインかぜウイルスの更なる子孫で、同じ H1N1 亜型のソ連型ウイルス (B 細胞エピトープの 30%, T 細胞エピトープの 70% が共通) の感染を受けていたので、ある程度の交叉免疫記憶を持っていた。これに対して、感染経験の浅い若年者や小児ではこの交叉性免疫が低かった。そのために、小児・若年者に比べて、成人・高齢者では新型インフルエンザ患者の発生が少なく、また 1 回のワクチン接種後でも十分な抗体応答が誘導されたのであろう。

今回のブタ型ウイルス由来の弱毒性ウイルスによるパンデミックでは、幸いにも健康被害や社会的影響は小さかった。その理由として、①ウイルスが季節性ウイルスと同じ弱毒型であった、②高齢者を中心に多くの方が過去の季節性 H1N1 ウイルスに対する交差性免疫を持っていた、③初発地が北米だったので、早期情報共有や早期対応が可能だった、④多くの国で H5N1 パンデミックを想定した事前準備が行われていた、⑤抗ウイルス剤に感受性を持ち、耐性ウイルスが拡大しなかった、などが挙げられる。そのため、今回の経験から新型インフルエンザの本質を誤解し、軽視する傾向が生じている。この間にも鳥での H5N1 の流行は続いているので、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の整備を怠ってはならない。

[高病原性 H5N1 鳥インフルエンザの流行]

2003 年後半に東アジアから始まった強毒型 H5N1 鳥インフルエンザは、東南アジア、シベリア南部、中東、欧州、北アフリカへと拡大を続け、HA の遺伝子と抗原性は 12 のクレードに細分化している。ウイルスは依然として超強毒性で、家禽、野鳥、ネコ、トラ、イヌなど多くの哺乳動物にも致死的全身感染を起こす。ウイルスは依然鳥型なのでヒトへの感染は稀だが、WHO は 16 カ国で約 600 人の感染患者を確認している。小児・若年成人が 90% を占め、不顕性感染は殆どない。主症状は急激に進行する重症肺炎だが、ウイルス血症で全身感染に至る。ウイルス感染に対する過剰防御応答

(サイトカインストーム)により多臓器不全が生じ、致死率は約 60%である。H5N1 鳥ウイルスによるヒトの感染症は、「インフルエンザ」とは異なる重症全身性疾患である。この強毒型鳥ウイルスがヒト型に変化して、大流行することが危惧されている。

[H5N1 強毒型パンデミックの可能性]

鳥型ウイルス自身はヒトではパンデミックを起こさないと考えられるが、H5N1 ウイルスがヒト型に変化すると、強毒性新型インフルエンザとして大流行し、甚大な健康被害と社会的影響をもたらす最悪のシナリオとなる可能性が高い。H5N1 鳥インフルエンザは(H1N1)2009 パンデミックとは独立に流行を続け、依然として鳥からの偶発的な感染患者も増えている。しかも、インドネシア、中国、エジプトなどでは、鳥での流行の無い地域での患者発生や、ヒト→ヒト伝播例も確認されている。更に中国とインドネシアでは、ブタでの不顕性感染も報告されている。ブタやヒトで H5N1 鳥ウイルスとヒト季節性 H1N1pdm09 ウイルスの同時感染が起こると、両者のウイルス遺伝子分節の交雑が起こって、強毒型のヒト型ウイルスが出現することも懸念される。日本でも、冬季にシベリアからの渡り鳥によって、しばしば強毒型 H5N1 鳥ウイルスが持ち込まれていることから、国内での新型インフルエンザ発生の可能性も否定できない。

インフルエンザウイルスの遺伝子変異はウイルスの複製回数に比例するので、鳥での伝播が続く限り、ヒト型に変化する危険が増える。既にヒト型への変化に対応する遺伝子変異も確認されている。特に、現在エジプトで流行中のウイルスは、レセプター結合特異性と増殖指摘温度がヒト型に変化して固定しており、特に懸念される。

昨年、現在流行中の H5N1 鳥ウイルスに僅か数個(3~5 ヲ所、最悪の場合は 1 個)の遺伝子変異が特定部位に起こると、容易にヒト型ウイルスに変化すること、しかも強い病原性は保持される、とのフェレットでの研究結果が示された。フェレットはヒトのインフルエンザ感染の動物モデルであ

る。このような変異を持ったウイルスは、既に少なからず感染患者からも分離されているが、これらの変異すべてを同時に持つウイルスは未だ報告がない。また、H5N1 鳥ウイルスはヒト季節性 H1N1pdm09 ウイルスとの遺伝子交雑により、容易にヒト型ウイルスに変化する可能性も示された。この場合には、交雑する遺伝子分節の組み合わせ次第では、病原性がある程度低下する可能性もある。何れにしろ、強毒型 H5N1 新型インフルエンザによる大流行が起こるリスクは予想以上に高いことが示され、準備計画の再検討と前倒し実施への警鐘が鳴らされた。

これに対して一部有識者は、このような研究成果が生物テロに悪用される危険性や、研究室からのウイルス漏出、盗難等の可能性を指摘して、論文発表の検閲から研究の規制・禁止に至る様々な言動を行っている。一方、インフルエンザや公衆衛生の専門家の間では、H5N1 鳥ウイルスがヒト型に変化する機序の解明は、新型インフルエンザ出現監視における対象項目の絞り込みやリスク評価に必須であり、これらの研究に対する制限は、ワクチン事前開発や抗ウイルス剤の効果予測など、公衆衛生上の対応に甚大なマイナスであるとの意見が強い。さらに、一国の圧力によって科学研究や研究発表の自由が阻止されることは、科学研究の原則からも許しがたいとの批判もある。

このようなヒト型ウイルスへの変化要件に関する情報は、既に多くの専門家の間ではほぼ常識であり、今更一部の研究成果の共有や研究を規制しても、生物テロへの悪用阻止効果は低い。鳥 H5N1 ウイルスが徐々にヒト型に変化しつつある現状からは、むしろ自然界でこのような新型ウイルスが出現する危険性が危惧される。従って、研究情報の悪用やウイルスの漏出・盗難を防ぐ有効な対策を検討・実施するとともに、これらの重要な情報に関係者間で共有して、予想される最悪の事態に対して速やかに備えることが重要である。両者の見解・指摘は何れも無視しえない緊急課題であることから、本問題の解決には、国際的な幅広い検討に基づいたバランスの取れた合意が必要であ

る。

甚大な健康被害と社会的影響という最悪のシナリオで起こる強毒型パンデミックの出現リスクは、予想外に高いことが強く示唆されている。未曾有の危機状況に対する危機管理体制の再構築、即ち、具体的な事前準備と緊急対応計画の再検討とその実施が緊急課題である。

E. 結論

新型インフルエンザ大流行による社会危機状況に対しては、最悪のシナリオを想定した、国による十分な事前準備と有効な緊急対応が必須となる。甚大な健康被害と社会的影響という最悪のシナリオで起こる H5N1 強毒型パンデミックの出現リスクは、予想外に高いことが強く示唆されている。この場合の健康被害は、現在で国が「想定」している最悪のシナリオ（スペインかぜインフルエンザ程度の致死率 2%）を遥かに超えることが予想される。

「想定外」に対する準備・対応を怠ってきた 2011 年の東日本大震災からの重い教訓をもとに、平成 23 年 9 月 20 日に新型インフルエンザ対策閣僚会議で決定された新型インフルエンザ対策行動計画については、科学的基盤に立ったリスク評価に基づいた「最悪のシナリオ」の再検討が必要である。また、これに沿った新型インフルエンザ専門家会議による新型インフルエンザ対策ガイドラインの見直しに係る意見書も、再検討されるべきである。

現在の鳥型ウイルスがヒト型に変異する機序の解明に基づいた、動物とヒトでのサーベイランスの実施とリスク評価方法を確立する必要がある。その実績に基づいて、未曾有の危機状況に対する危機管理体制の再構築、即ち、具体的な事前準備と緊急対応計画の再検討とその実施が緊急課題である。

一方、国による対策計画を実施可能にするためには、国の実施権限と地方自治体や民間・諸機関に対する協力要請・指示などに関する法的基盤が必要だが、我が国には、これらが欠落しているこ

とが(H1N1)2009 パンデミックからの重要な教訓の一つである。国家危機・社会危機などの緊急事態に対応した健康危機管理に関する基本法（新型インフルエンザ特別措置法（仮））の整備が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sriwilaijaroen, N., Kadowaki, A., Onishi, Y., Gato, N., Ujike, M., Odagiri, T., Tashiro, M., Suzuki, Y.: Mumefural and related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A (H1N1) virus. *Food Chem. Food Chemistry* 127: 1–9, 2011.
[doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.031](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.031)

Nakauchi, M., Ujike, M., Obuchi, M., Takashita, E., Takayama, I., Ohba, K., Konomi, N., Odagiri, T., Tashiro, M., Kageyama, T., and the working group for influenza virus surveillance in Japan: Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -sensitive 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. *J. Med. Virol.* 83: 1121–1127, 2011.

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 on booster injection with heterologous clades of vaccine strains. *Vaccine* 29: 4156–4161, 2011.

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)
- Featherstone, D. A., Rota, P. A., Icenogle, J., Mulders, M. N., Jee, Y.-M., Ahmed, H., Bispo de Filippis, A. M., Ramamurty, N., Gavrilin, 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. *J. Infect. Dis.* 204(suppl 1): S491-S498v, 2011
- Ainai, A., Hasegawa, H., Tashiro, M. :Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. *Human Vaccines* 7: 174-182, 2011.
- Nakauchi, M., Yasui, Y., Miyoshi, T., Minagawa, H., Tanaka, T., Tashiro, M., Kageyama, T. :One-step, real-time reverse transcriptase-PCR assays for detecting and subtyping pandemic influenza A/H1N1 2009, seasonal influenza A/H1N1, and seasonal influenza A/H3N2 viruses. *J. Virol. Methods.* 171:156-162, 2011.
- 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. *J. Med. Virol.* 83:10-15, 2011.
- Ujike, M., Ejima, M., Anraku, A., Shimabukuro, K., Obuchi, M., Kishida, N., Xu, H., Takashita, E., Yamashita, K., Horikawa, H., Kato, Oguchi, A., Fujita, N., Tashiro, M., Odagiri, T., The working group for influenza virus surveillance in Japan. :Monitoring and characterization of Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus from May 2009 to Feb 2010, Japan. *Emer. Infect. Dis.* DOI: 10.3201/eid1703.101188 (2011)
- 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 Infect. Dis.* 11: 168 (2011); doi:10.1186/1471-2334-11-168 (2011)
- Hurt, A., Chotpitayasunondh, T., Cox, N., Daniels, R., Fry, A., Gubareva, L., Hayden, F., Hui, D., Hungnes, O., Lackenby, A., Lim, W., Meijer, A., Penn, C., Tashiro, M., Uyeki, T., Zambon, M.: Antiviral resistance during the A(H1N1) 2009 influenza pandemic: public health, laboratory, and clinical perspectives. *Lancet Infect. Dis.* doi:10.1016/S1473-3099(11)70318-8 (2011)
- Yanagita, H., Yamamoto, N., Fuji H., Liu, X., Takaku, H., Hasegawa, H., Odagiri, T., Tashiro, M., Hoshino, T. :A mechanism of drug resistance of hemagglutinin of influenza virus and potent scaffolds inhibiting its function *ACS Chem. Biol.*, DOI: 10.1021/cb200332k (2012)
- Kishida, N., Fujisaki, S., Yokoyama, N., Sato,

H., Saito, R., Ikematsu, H., Xu, H., Takashita, E., Tashiro, M., Takao, S., Yano, T., Suga, T., Kawakami, C., Abe, K., Kajiyama, K., Saito, H., Shimada, S., Watanabe, S., Aoki, S., Taira, K., Yamada, T., Lin, J.-H., Odagiri, T. :Evaluation of influenza A/H3N2 and B vaccines for 2010/11 season on the basis of cross-reactivity of post-vaccination human serum antibodies against influenza A/H3N2 and B viruses isolated in MDCK cells and embryonated hens eggs. *Clin. Vaccine Immunol.* (2012 in press).

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 1 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.
(doi:10.1016/j.vaccine.2011.08.091)

Featherstone, D. A., Rota, P. A., Icenogle, J., Mulders, M. N., Jee, Y.-M., Ahmed, H., Bispo 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. : Global Progress Toward Measles Eradication and Prevention of Rubella and Congenital Rubella Syndrome. *J Infect Dis.* 204 (suppl 1): NP. doi: 10.1093/infdis/jir372, 2011

WHO Writing Group, William K. Ampofo, W. K., Baylor, N., Cobey, S., Cox, N., Daves, S., Edwards, S., Ferguson, N., Grohmann, G., Hay, A., Katz, J., Kullabutr, K., Lambert, L., Lewandowski, R., Mishra, A. C., Monto, A., Sequeira, 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 2011 *Influenza and Other Respiratory Viruses.* DOI:10.1111/j.1750-2659.2011.00277x (2011)

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

Asanuma, H., Zamri, N. B., Sekine, S., Fukuyama, Y., Tokuhara, D., Gilbert, R. S., Fukuiwa, T., 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.

Klimov, A. I., Garten, R., Russell, C., Barr, I. G., Besselar, 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(H3N2) and B influenza viruses. *Vaccine* (2012 in press)

Yoshida, A., Kiyota, N., Kobayashi, M., Nishimura, K., Tsutsui, R., Tsukagoshi, H., Hirano, E., Yamamoto, N., Ryo, A., Saitoh, M.,