

201225005B

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

地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性  
インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の  
改良および流行把握に関する研究

平成 22-24 年度 総合研究報告書

研究代表者 小田切孝人

平成 25 (2013) 年 3 月

# 目 次

## 平成 22-24 年度

### I. 総合総括研究報告書

地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究

研究代表者： 小田切孝人 \_\_\_\_\_ P1

### II. 分担研究総合報告書

1. インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間および国立感染症研究所との連携強化に関する研究

皆川洋子 \_\_\_\_\_ P10

研究協力者：池田辰也、水田克己、長島真美、新開敬行、林志直、加瀬哲男、森川佐依子、廣井聡、高橋和郎、戸田昌一、調恒明、吉富秀亮、千々和勝己、駒込理佳、長野秀樹、川上千春、小淵正次、滝澤剛則、内野清子、田中智之、平良勝也、山下和予、安井善宏

2. リアルタイム PCR 法を用いた H275Y オセルタミビル耐性株の検出系の構築およびインフルエンザウイルス核酸検出検査(リアルタイム RT-PCR 法)の外部精度管理(EQA)評価について

影山努 \_\_\_\_\_ P18

研究協力者：高山郁代、中内美名、高橋 仁

3. 日本国内における抗インフルエンザ薬耐性ウイルス監視体制の構築および強化に関する研究

高下恵美 \_\_\_\_\_ P26

4. インフルエンザウイルス蛋白質の機能的構造変化解析系の構築と変化予測

佐藤裕徳 \_\_\_\_\_ P33

研究協力者：横山勝

5. 遺伝子解析による変異検出と進化系統樹解析

藤田信之 \_\_\_\_\_ P39

研究協力者：小口晃央、花巻朝子、山崎秀司

6. 地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究

齋藤玲子 \_\_\_\_\_ P51

研究協力者：菖蒲川由郷、鈴木宏、樋熊紀男、高橋キイ子、布施克也

### III. 協力研究報告書

1. 北海道におけるインフルエンザウイルスの検出状況について  
北海道立衛生研究所 駒込理佳、三好正浩、長野秀樹 — 56
2. 東京都におけるインフルエンザウイルス検出法の検討と抗インフルエンザ薬に対する耐性遺伝子変異の獲得状況について  
東京都健康安全研究センター 新開敬行 長島真美 林志直 ———— 62
3. 横浜市におけるインフルエンザウイルスの解析  
横浜市衛生研究所 川上千春 ————— 67
4. A型インフルエンザウイルス市中流行株の抗原性、薬剤耐性変異等の把握に関する研究  
愛知県衛生研究所 安井善宏、中村(藤原)範子、小林慎一、山下照夫、藤浦 明、  
平松礼司、皆川 洋子 ————— 79
5. 堺市におけるインフルエンザサーベイランス、及び2011/12～2012/13シーズンに分離されたインフルエンザウイルス株の解析  
堺市衛生研究所 内野清子、田中智之 ————— 85
6. 沖縄県において2011/12シーズンに検出されたAH3亜型インフルエンザ分離株のHA1遺伝子解析からみた動向  
沖縄県衛生環境研究所 平良勝也 喜屋武向子 久場由真仁 ———— 88

### IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 ————— P91

# 1. 総合総括研究報告書

## 地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究

研究代表者 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 室室長

### 研究要旨

全国地方ブロック代表のコア地方衛生研究所（地衛研）6 機関およびサポート地衛研 5 機関からなるコア・サポート地衛研ネットワークを組織し、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（感染研）を中心とした基礎研究グループと連携した共同研究体制を構築した。全国地衛研に新しい PCR 検査法や株サーベイランス技術を導入する際は、このコア・サポート地衛研－感染研共同研究グループで試験的に実施し、全国規模で実施するための問題点を把握し、それらを改訂した後に全国地衛研へ技術移転した。本研究はこのような 2 ステップの実施戦略を取ることで、各地衛研の実情を理解したより実行性の高い検査、株サーベイランス体制の維持、強化を目指した。初年度には、新規にオセルタミビル耐性マーカー H275Y 変異を捉える TaqMan PCR 法を開発し、コア・サポート地衛研での試行、標準化を経て全国地衛研へ技術移転し、世界最大規模のインフルエンザ A/H1N1pdm09 薬剤耐性株サーベイランスを実現した。H23、H24 年度は、地衛研における PCR 検査系の感度、精度を見直し、改善を推し進めるために、コア・サポート地衛研で外部精度管理評価試験（External Quality Assessment Program, EQAP）を実施した。EQA サンプルパネルと評価法の簡略化を行い、再試行することにより、格段の精度改善が見られたことから、EQAP を全国規模で実施することにより、地衛研の PCR 検査系の改善支援につながる事が確認された。また、全国地衛研に対する検査、サーベイランス体制の現状把握のためのアンケート調査においても、EQAP の実施を要望する地衛研が多く、EQAP の全国規模での実施が期待されている。一方、基礎研究グループでは、新たに導入された抗インフルエンザ薬 2 剤を含む 4 薬剤に対する感受性試験系を構築し、A 型、B 型ウイルス全ての亜型/型について、耐性株の発生状況をモニターした。また、流行株の NA、M 遺伝子の大量解析を行い、その情報を WHO および国内のワクチン株選定会議へ提供し、ワクチン株の選定に貢献した。ハイリスク変異株が出現した際には、全 8 ゲノム RNA が解析できるように A/H1N1pdm09、A/H3N2、B 型全てのプライマーセットを完成させ、一方では、プライマーに依存せずに短期間で一定量のウイルスを解析できるように次世代型シーケンサーを導入した解析系の基盤整備を行った。また、計算科学技術を応用した分子動力学法で新規の耐性変異を持つ B 型薬剤耐性株の耐性化の機序を明らかにした。各年度ごとのインフルエンザワクチンの有効性を評価するために、成人層、高齢者層のワクチン接種前後の抗体価を赤血球凝集抑制試験で測定し、年度間でのワクチンの有効性の違いを把握した。試験に用いた国産ワクチンは、一般的には良好な免疫原性を有していた。

## 研究組織

### 研究代表者

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室室長

### 研究分担者

皆川洋子 愛知県衛生研究所所長  
齋藤玲子 新潟大学大学院医歯学系教授

藤田信之 製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター次長

佐藤裕徳 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター室長

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室室長

高下恵美 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主任研究官

## A. 研究目的

2009年にブタ由来のインフルエンザ A/H1N1 ウイルス(A/H1N1pdm09)によりパンデミックが起こった際には、わが国では全国地方衛生研究所(地衛研)と国立感染症研究所(感染研)とが連携し、感染者が国内に侵入する前に、1-2週間という驚異的なスピードで全地衛研でのPCR検査系の構築に成功した。これによって、わが国では原因ウイルスを迎え撃つ体制でパンデミックに対する初動対応ができた。この様な全国規模で迅速な準備対応に成功した例は、諸外国では無く、わが国のサーベイランス体制は諸外国から高く評価されている。この成功の背景には、高病原性H5N1鳥インフルエンザを前提とした新型インフルエンザ対策があり、その一環として、事前に感染研から地衛研へリアルタイムPCR検査技術の移転がパンデミック発生9ヶ月前に完了していたという幸運な点がある。また、技術移転研修をとおして地衛研-感染

研相互協力が密になっていたことも成功要因と思われる。しかし、パンデミックが発生して以来、3シーズンが経過し、A/H1N1pdm09ウイルスは季節性インフルエンザウイルスとしてヒト社会に定着したことから、一般国民や国の新型インフルエンザに対する関心が薄れてきている。この結果、国や地方自治体のインフルエンザ対策にかける予算や人員の削減が始まり、検査、サーベイランスの最前線である地衛研組織の弱体化が進んでいる。さらに、地衛研担当者の定期異動により、これまで培った技術やノウハウを地衛研に定着させ継承させることが困難になりつつあり、これらの維持、強化が課題となっている。現在、インフルエンザ株サーベイランスを実施している地衛研は79ヶ所あり、個々の地衛研に感染研が個別に対応することは多くの時間を要し効率が悪い。また、感染研から一方向で地衛研へ技術移転することは、必ずしも地衛研側の実情に沿っていない場合もあり、地衛研によっては実施困難なところもある。このため、感染研-地衛研双方向での事前の検討ステップを経て、全国規模へ拡大するという2ステップ法を取ることが、現実的かつ効果的と考えた。そこで、本研究班では第1ステップに相当する特定の地衛研と感染研との事前協議システムを構築するために、6地方ブロックからコア機能を果たすコア・サポート地衛研を地衛研全国協議会感染症対策部会から推薦してもらい、コア・サポート地衛研-感染研共同研究体制を立ち上げた(図1)。

一方、本研究班には、感染研を中心とした協力機関が参画した基礎研究グループがあり、この研究グループが立案、開発した検査法や解析法を地衛研に技術移転して、検査、サーベイランスの効率化と強化の支援をする基盤構築を目指した(図2)。

## B. 研究方法

1. 地方衛生研究所全国協議会感染症部会と連携し、コア地衛研(レファレンスセ

ンター) 6 機関に加え、助言者 (サポート地衛研) 5 機関 計 11 機関からなるコア・サポート地衛研組織を組織し、感染研グループと共同研究体制を構築した。

2. 従来のノイラミニダーゼ (NA) 部分シーケンス法に代わる TaqManPCR 法を導入した A/H1N1pdm09 ウイルス薬剤耐性株 H275Y 検出系を構築した。コア・サポート地衛研による事前検証と標準マニュアルの作成および全国地衛研への技術移転、耐性株サーベイランスを実施した。

3. EQAP の実施要項および結果報告フォーマット、アンケートを作成し、パネル検体 (H5N1 亜型の標準 RNA、未知濃度の亜型同定用ウイルス RNA 7 検体、濃度の異なる不活化 A/California/7/2009 ワクチン株 2 検体および陰性検体 1 検体) と共に参加地衛研へ配布し、第 1 回目の EQAP を実施した。また、この成績をもとに、簡便化改良したサンプルパネルと実施要綱の改訂で第 2 回目 EQAP を実施した。

4. 全国地衛研を対象に、インフルエンザウイルス検査体制、株サーベイランスの現状、要望に関するアンケート調査を実施した。

5. A/H1N1pdm09 ウイルスに加えて各シーズンの A (H3N2) および B 型分離株のうち、感染症サーベイランスシステム (NESID) 登録株の約 5-15% をコンピュータでランダムに選択して、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビルおよびラニナミビルに対する感受性試験を実施し、薬剤耐性株のスクリーニングを行った。

6. B 型ヴィクトリア系統の薬剤感受性株と耐性株の NA 蛋白質四量体を解析対象として、ホモロジーモデリング法により NA 蛋白質の機能構造モデル (四量体構造) を構築した。モデリングには、MOE (Chemical Computing Group Inc., Montreal, Quebec, Canada) に搭載されているプログラムを用いた。さらに、分子動力学計算により、NA 蛋白質に E105K 変異を導入した薬剤耐性株

の NA 蛋白質の分子動力学解析を行った。一方、ウイルス HA 蛋白質の卵馴化による変異を分子動力的に解析した。

7. 地衛研等を通して感染研に集積されたインフルエンザウイルスの 5-10% を目処に、重要な遺伝子分節の全塩基配列を決定した。得られた塩基配列もしくはアミノ酸配列をもとに、近隣結合法および最尤法で分子系統解析を行い、薬剤耐性変異等の出現や変遷について分析を行った。さらに、最終年度には、新型のウイルスの出現も視野に、次世代型シーケンサーを用いたウイルス型に依存しない全セグメント解析の手法について検討を行った。

8. 新潟県内の高齢者施設の医療従事者と入所者、一般病院の従事者でインフォームドコンセントが得られたものに対して、各年度 (2010/2011、2011/2012、2012/2013 シーズン) 用インフルエンザワクチン (三価) 接種者の接種前後のペア血清を用いて、各ワクチンウイルスに対する抗体応答を赤血球凝集抑制試験 (HI) 法にて評価した。また、最終年度には成人群では前年度のインフルエンザ罹患または周囲の罹患の有無の情報により、前シーズンにインフルエンザに罹患した群 (罹患群)、インフルエンザに罹患しなかったが周囲に罹患者がいた群 (接触群)、本人罹患・周囲の罹患ともになかった群 (非罹患非接触群) の 3 群に分けて比較を試みた。

## C. 結果

### 1. 感染研・地衛研間のインフルエンザ連携検査研究体制整備

全国ブロックごとのコア地衛研 6 機関、インフルエンザ研究を長年実施し地域的特徴を有するサポート地衛研 5 機関合計 11 機関からなるコア・サポート地衛研を組織し、感染研との迅速な連携体制を導入した。これによって、コア地衛研により、電子メールを主体とする全国 6 ブロック内地衛研のインフルエンザ担当者への連絡体制が確立

された。

## 2. オセルタミビル耐性サーベイランスの 実地検証

感染研で新たに開発した TaqMan RT-PCR を用いたオセルタミビル耐性変異 (H275Y) 検出システムの地衛研への適用にあたり、11 地衛研は機種別マニュアルの試用に参画し、検体を用いた実地検証を実施して11月中旬にすべてのデータを感染研の検査系開発チームに還元した。

## 3. コア・サポート地衛研による 2 回の EQAP の実施

H23 年度に第 1 回目を実施し、EQAP パネルや評価法の複雑さなど、全国地衛研で実施するための問題点や評価フォーマットの改訂を行った。試験成績について、担当者(影山研究分担者)からトラブルシューティングが個別になされ、それを反映させて行われた EQAP により、全参加コア・サポート地衛研の PCR 検査感度、精度の飛躍的な改善が見られた。このことから、EQAP を全国規模で実施することの有用性が実証され。

## 4. 全国地衛研を対象とした検査、株サー ベイランスの実態把握のためのアンケート 調査

79 機関中 99%から回答があった。多くの地衛研が人員や予算の面で 2009 年より厳しい状況にあり、翌シーズン用ワクチン株決定に不可欠な流行ウイルス株の分離の意義について、今後自治体等関係者の理解を得る努力が必要であることが示された。また、EQAP の実施については、積極的に参加の意向を示す地衛研が多く、感染研による全国規模の EQAP が実現することが期待された。

## 5. A 香港型 (H3N2) および B 型ワクチン株の 抗原性変化と HA 遺伝子変化の解析

ワクチン株製造過程で生じる HA 蛋白質の変化を構造レベルで解析した。2009 年の A 香港型と B 型のワクチン原株の HA は、鶏卵での馴化の過程で受容体結合ポケット周辺の変異を獲得して抗原性が変化するリスクがあることがわかった。今後のワクチン株

選定においては、鶏卵培養や細胞培養によるワクチン原株の抗原性変化のリスクを事前に検討することが極めて重要になることが分かった。

## 6. 分子動力学解析の実施環境の構築と B 型ヴィクトリア系統の薬剤感受性株と耐性 株の NA 蛋白質四量体の構造解析

薬剤結合部位から離れた場所に生じる変異 (E105K) をもつ B 型ヴィクトリア系統のインフルエンザウイルス株の薬剤耐性機序を分子動力学で解析した。この変異は、境界面の荷電環境の変化を介して、四量体構造の安定性の変化を惹起しうること、また、隣接する W438 との相互作用の変化を介して、間接的に抗ウイルス薬の結合部位の一部 (R116) の立体配置に影響を与えることが示唆された。また、E105 は隣接する NA 分子との境界面に位置するアミノ酸残基 G141 との間に水素結合を形成することを見出した。

## 7. A 型、B 型ウイルス NA および M 遺伝子の 大量解析

A/H1N1pdm09、A/H3N2、B ウイルスについて、それぞれの NA および M 遺伝子全長の塩基配列を決定した。それぞれについて、進化系統樹解析を行い、最近の流行株の遺伝的な進化傾向をまとめた。これらの情報は、WHO インフルエンザワクチン株選定および国内のワクチン株選定会議に提供され、ワクチン株決定に重要な役割を果たした。

一方、8 本のゲノム全ての塩基配列の決定ができるプライマーセットを開発しておくことは、ウイルスのリスク評価や緊急時の検査の際の PCR プライマー、プローブ設定にとって重要な情報提供となる。このため、A/H1N1pdm09、A/H3N2 および B 型ウイルスの全 8 ゲノム塩基配列決定用プライマーセットを開発し、プロトコルを整備した。

さらに、ベンチトップ型の次世代型シーケンサーであるイルミナ社の MiSeq を用いて、全 8 セグメント解析を行うためのプロトコルの検討を行い、4 日間で 20 株程度に



ついて、全セグメントの全長解析が可能な暫定プロトコールを作成した。

#### 8. インフルエンザワクチンの A(H1N1)pdm、A(H3N2)、B に対する血清抗体応答の評価

2010/11 シーズンは、高齢者施設と一般病院の医療従事者（成人）532 人と高齢者施設の入所者 47 人（高齢者）についてワクチン接種前後の抗体価を HI 試験で測定した。A(H1N1)pdm に対する抗体は、成人・高齢者とも接種前 30%未満と低かったものの、ワクチン接種による抗体価上昇が認められた。A(H3N2)、B 型では接種後でおおむね 70%に達する有効抗体保有率を達成していたが、高齢者ではやや反応が悪く、特に A(H3N2)では接種後も 38.3%と低い保有率であった。

2012/13 シーズンは、成人群 97 名、高齢者群 50 名について、当該シーズンワクチン接種前後のペア血清を用いて、40 倍以上の抗体価保有率、幾何平均抗体価（GMT）、および応答率（抗体有意上昇率）について調べた。成人群、高齢者群ともにそれぞれの評価項目については、国際基準値をクリアする抗体応答が見られ、両群に優位の差は見られなかった。

#### D. 考察

わが国のインフルエンザ株サーベイランス網および診断検査の精度をこれまで以上にレベルアップするために、全国 79 地衛研の地方ブロック代表であるコア・サポート地衛研ネットワークを組織した。新しい企画を導入する際には、感染研ーコア・サポート地衛研共同で試験運用し、改訂するという第 1 段階をへてから全国規模で普及させるという効率的な運用の仕組みができた（図 1）。本研究の成果は、基礎研究グループが開発した TaqMan-PCR 法を地衛研の A/H1N1pdm09 薬剤耐性株サーベイランスに導入できたことである。また、PCR 検査系の精度を上げるために、2 回にわたる EQAP をコア・サポート地衛研で実施し、格段に

PCR 感度や精度が改善されることが実証された。さらに、アンケート調査において、EQAP の実施を希望する地衛研が多く、関心の高さと各地衛研の検査系の改善に対する意気込みが感じられる。本研究期間内では、コア・サポート地衛研での EQAP の試験運用で終了したが、新規に予定している研究班でこのプロジェクトを継続し、全国規模での実施を推し進めたい。一方、株サーベイランスにとって EQAP が必要か検討し、試験項目や EQA パネルの設定、評価法の立案など今後の課題も多い。今後も、コア・サポート地衛研と密に協議を重ね、実施の要否を含めて検討したい。

#### E. 結論

- 全国ブロックごとのコア・サポート地衛研ネットワークが組織され、感染研との連携を強化したサーベイランス体制ができた。
- TaqManPCR によるオセルタミビル耐性マーカー H275Y を持つウイルスの高感度検査系が構築された。
- コア・サポート地衛研で第 2 回の PCR 検査系の EQAP を実施し、トラブルシューティングにより、PCR 感度および精度が顕著に改善された。
- 全国地衛研を対象とした検査、株サーベイランス体制のアンケート調査で、実情把握を行った。
- 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを行い、2011/12 シーズンは、A(H3N2)で 1 株耐性株を検出した。
- A(H1N1)pdm09、A(H3N2)および B 型の全ゲノム RNA を解析するプライマーの設定が完了した。また、次世代型シーケンサーを用いて、短期間に一定の株数を解析する暫定プロトコールを作成した。
- ワクチン株製造過程で生じる HA 蛋白質の変化を構造レベルで解析した結果、2009 年の A 香港型と B 型のワクチン原

株の HA は、鶏卵での馴化の過程で受容体結合ポケット周辺の変異を獲得して抗原性が変化するリスクがあることがわかった。

- ・サーベイランスで捉えた変異株のリスク評価に分子動力学を実行する環境(ハードとソフト)を整備した。
- ・今シーズンワクチンの抗体応答を成人層、高齢者層で評価した。

## F. 研究発表

### 1 論文発表

・Makoto Ujike, Kozue Shimabukuro, Kiku Mochizuki, Masatsugu Obuchi, Tsutomu Kageyama, Masayuki Shirakura, Noriko Kishida, Kazuyo Yamashita, Hiroshi Horikawa, Yumiko Kato, Nobuyuki Fujita, Masato Tashiro, Takato Odagiri, and the Working Group for Influenza Virus Surveillance in Japan. Oseltamivir-Resistant Influenza Viruses A (H1N1) during 2007–2009 Influenza Seasons, Japan. *Emerging Infectious Diseases*.  
• www.cdc.gov/eid • Vol. 16, No. 6, 926-935, 2010

・Makoto Ujike, Miho Ejima, Akane Anraku, Kozue Shimabukuro, Masatsugu Obuchi, Noriko Kishida, Xu Hong, Emi Takashita, Seiichiro Fujisaki, Kazuyo Yamashita, Hiroshi Horikawa, Yumiko Kato, Akio Oguchi, Nobuyuki Fujita, Masato Tashiro, Takato Odagiri, and the Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Monitoring and Characterization of Oseltamivir-Resistant Pandemic (H1N1) 2009 Virus, Japan, 2009–2010. *Emerging Infect Dis.*: 17, 470-479, 2011

・Nakauchi M, Ujike M, Obuchi M, Takashita E, Takayama I, Ejima M, Oba K, Konomi N, Odagiri T, Tashiro M, Kageyama T; the influenza virus surveillance group of Japan. 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. *J Med Virol.* 2011 Jul;83(7):1121-1127

・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.* 2011 Oct 26;29(46):8330-8337

・Dapat C, Suzuki Y, Kon M, Tamura T, Saito R, Dapat IC, Yamazaki O, Odagiri T, Fujisaki S, Suzuki H. Phylogenetic analysis of an off-seasonal influenza virus A (H3N2) in Niigata, Japan, 2010. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(3):237-41.

・Kishida N, Fujisaki S, Yokoyama M, Sato H, Saito R, Ikematsu H, Xu H, Takashita E, Tashiro M, Takao S, Yano T, Suga T, Kawakami C, Yamamoto M, Kajiyama K, Saito H, Shimada S, Watanabe S, Aoki S, Taira K, Kon M, Lin JH, Odagiri T. Evaluation of influenza virus A/H3N2 and B vaccines on the basis of cross-reactivity of postvaccination human serum antibodies against influenza viruses A/H3N2 and B isolated in MDCK cells and embryonated hen eggs. *Clin Vaccine Immunol.* 19(6):897-908 (2012)

・Seiichiro Fujisaki, Emi Takashita, Masaru Yokoyama, Tae Taniwaki, Hong Xu, Noriko Kishida, Hironori Sato, Masato Tashiro, Masaki Imai, Takato Odagiri. A single E105K mutation far from the active site of influenza B virus neuraminidase contributes to reduced susceptibility to multiple neuraminidase-inhibitor drugs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 429: 51-56 (2012)

・Klimov AI, Garten R, Russell C, Barr IG, Besselaar TG, Daniels R, Engelhardt OG,

Grohmann G, Itamura S, Kelso A, McCauley J, Odagiri T, Smith D, Tashiro M, Xu X, Webby R, Wang D, Ye Z, Yuelong S, Zhang W, Cox N; Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Southern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2012. WHO recommendations for the viruses to be used in the 2012 Southern Hemisphere Influenza Vaccine: Epidemiology, antigenic and genetic characteristics of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B influenza viruses collected from February to September 2011. *Vaccine*. 30(45):6461-71 (2012)

•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*. 16;7(3): 552-62 (2012)

•Ainai 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*. 84(2): 336-44 (2012)

## 2 学会発表

•Mina Nakauchi, Tsutomu Kageyama, Makoto Ujike, Masatsugu Obuchi, Emi Takashita, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Kunihiro Oba, Nami Konomi, and the working group for influenza virus surveillance in Japan.: A rapid genotyping of oseltamivir-resistant or susceptible pandemic A/H1N1 2009 influenza viruses by duplex RT-PCR assay. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, 2010, September

•Takashita E, Ujike M, Ejima M, Fujisaki S, Obuchi M, Kim N, Kishida N, Xu H, Sugawara H, Itoh R, Doi T, Tashiro M, Odagiri T. Detection and characterizations of oseltamivir-resistant pandemic influenza A/H1N1 2009 viruses in the 2009/10 season in Japan. Options for the Control of Influenza VII, September 2010

•Kishida N, Xu H, Takashita E, Obuchi M, Fujisaki S, Ujike M, Ito R, Doi T, Sugawara H, Ejima M, Kim N, Ami Y, Suzaki Y, Yamashita K, Yasui Y, Tada Y, Okabe N, Tashiro M, Odagiri T. Characterizations of influenza viruses isolated during the 2009/10 season in Japan and neighboring countries. Options for the Control of Influenza VII, September 2010

・小田切孝人 新型インフルエンザ A/H1N1 ウイルスとワクチン製造、接種戦略 第50回日本呼吸器学会学術講演会 京都、4月(2010)

・高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、本村和嗣、佐藤彩、佐藤裕徳、氏家誠、小淵正次、田代真人、小田切孝人、全国地方衛生研究所：2009/10シーズンにおける抗インフルエンザ薬剤耐性pandemic A/H1N1株の検出と新規薬剤ペラミビルに対する交叉耐性。第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月。

・中内美名、高山郁代、高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、氏家誠、小淵正次、大場邦弘、許斐奈美、小田切孝人、田代真人、影山努、全国地方衛生研究所：A/H1N1pdm タミフル耐性株の迅速検出法の開発。第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月。

•E.Takashita, M.Ejima, I.Takayama, M.Nakauchi, S.Fujisaki, N.Kim, N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Itoh, T.Doi, T.Kageyama, M.Tashiro and T.Odagiri: Detection of antiviral-resistant pandemic influenza A(H1N1)2009 (A(H1N1)pdm0909) viruses by

a combination of chemiluminescent and fluorescent neuraminidase inhibitor susceptibility assays in Japan XV International Congress of Virology, September 2011

・H.Xu, N.Kishida, E.Takashita, S.Fujisaki, R.Ito, T.Do, H.Sugawara, M.Ejima, N.Kim, M.Tashiro, T.Odagiri, and the influenza virus surveillance group of Japan: Antigenic and genetic characterizations of influenza viruses isolated in 2010/11 season in Japan XV International Congress of Virology, September 2011

・N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Ito, T.Do, E.Takashita, S.Fujisaki, M.Ejima, N.Kim, R.Saito, H.Ikematsu, M.Tashiro and T.Odagiri: Cross-reactivity of human serum antibodies elicited by trivalent influenza vaccine for 2010/11 season against influenza A/H3N2 and B viruses isolated in embryonated eggs and MDCK cells XV International Congress of Virology, September 2011

・I.Takayama, E.Takashita, M.Ejima, M.Nakauchi, S.Fujisaki, N.Kim, N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Itoh, T.Do, T.Kageyama, T.Odagiri and M.Tashiro: Improved surveillance system to detect antiviral-resistant influenza A(H1N1)pdm0909 viruses in Japan Influenza Antivirals: Efficacy and Resistance, November 2011

・岸田典子、藤崎誠一郎、横山勝、佐藤裕徳、齋藤玲子、池松秀之、徐紅、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金南希、佐藤彩、田代真人、小田切孝人: インフルエンザワクチン接種後のヒト血清抗体の交叉反応性をもとに評価した2010/11シーズンA/H3およびB型ワクチンの効果 第15回日本ワクチン学会学術集会、2011年12月

・藤崎誠一郎、今井正樹、高下恵美、谷脇妙、徐紅、岸田典子、横山勝、佐藤裕徳、江島美穂、金南希、佐藤彩、土井輝子、伊東玲子、菅原裕美、田代

真人、小田切孝人「新しい薬剤耐性変異を持つB型インフルエンザウイルスの性状」第60回日本ウイルス学会大阪、2012年11月

・高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、岸田典子、徐紅、今井正樹、金南希、佐藤彩、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代真人、小田切孝人、全国地方衛生研究所「3シーズンにわたる日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス」第60回日本ウイルス学会大阪、2012年11月

・小田切孝人、岸田典子、徐紅、藤崎誠一郎、今井正樹、高下恵美、田代真人「孵化鶏卵分離、馴化に伴うインフルエンザワクチン株の抗原性変異と問題点」第16回日本ワクチン学会横浜、2012年11月

・小田切孝人、岸田典子、徐紅、今井正樹、藤崎誠一郎、高下恵美、田代真人 インフルエンザワクチン株の卵馴化による2012/13 シーズンワクチンの効果におよぼす影響およびブタ由来 A/H3N2 variant(v)ウイルスに対する邦人の抗体保有状況 Second Negative Strand Virus-Japan Symposium 沖縄、2013年1月

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

無し

##### 2. 実用新案登録

無し

##### 3. その他

無し

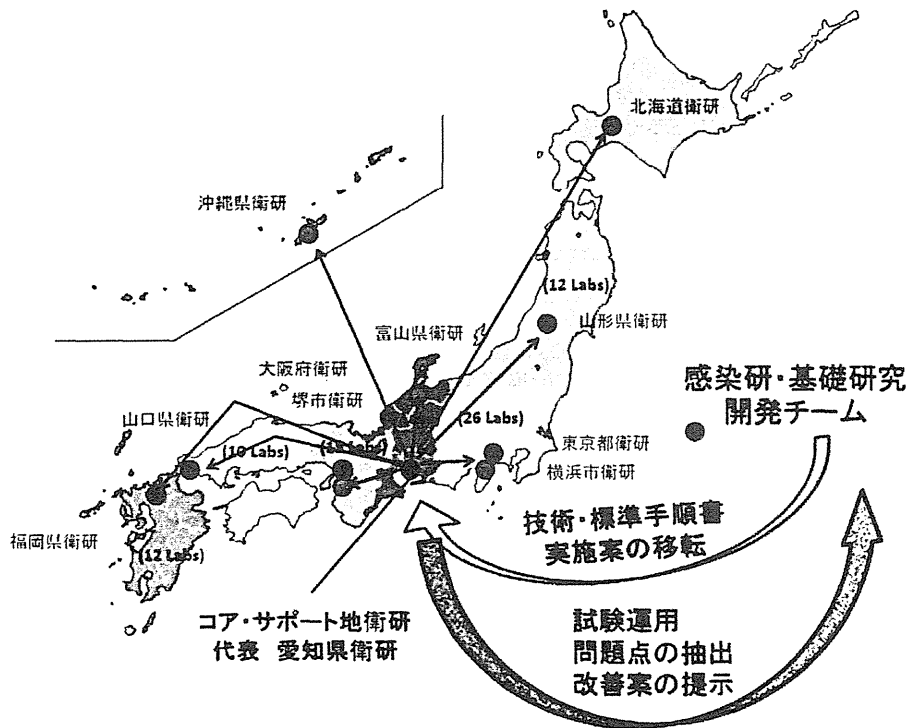


図1 コア・サポート地衛研—感染研共同研究体制

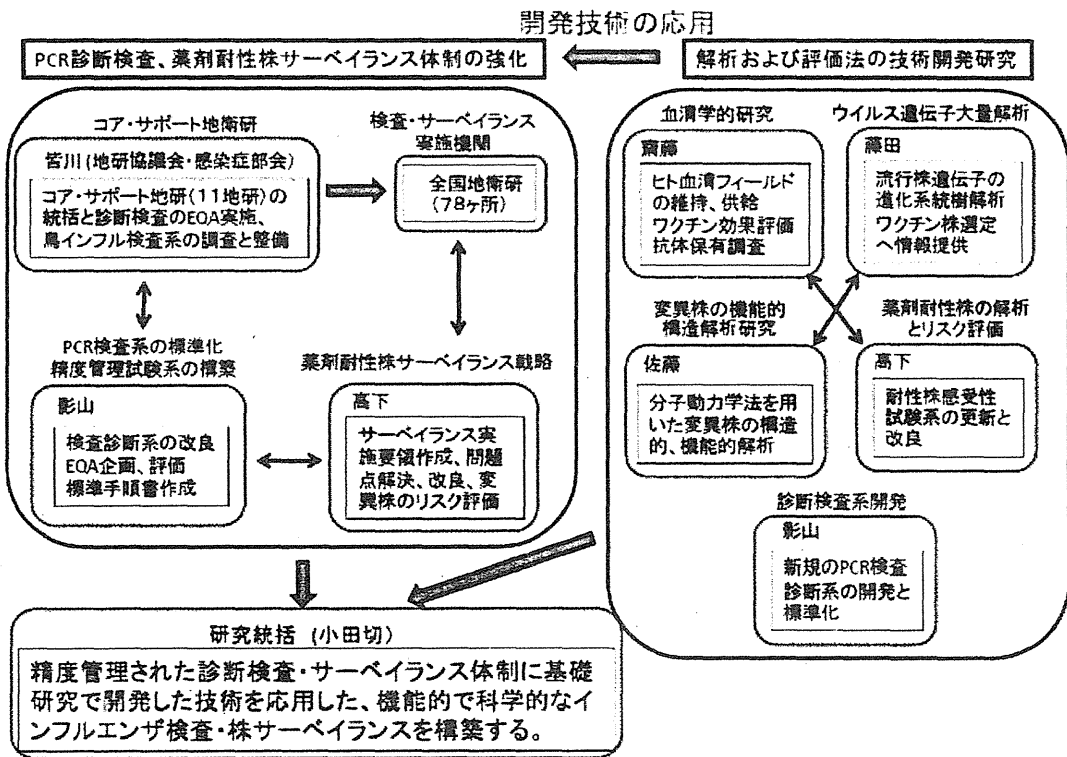


図2 コア・サポート地衛研—感染研共同研究グループおよび基礎研究グループの役割と相互関係

## II. 分担研究総合報告書

## インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間 および国立感染症研究所との連携強化に関する研究

研究分担者 皆川 洋子 愛知県衛生研究所 所長

### 研究協力者

池田辰也、水田克巳	山形県衛生研究所（コア地衛研）
長島真美、新開敬行、林 志直	東京都健康安全研究センター（コア地衛研）
加瀬哲男、森川佐依子、廣井聡、 中田恵子、高橋和郎	大阪府立公衆衛生研究所（コア地衛研）
戸田昌一、調 恒明*	山口県環境保健センター（コア地衛研）
吉富秀亮、千々和勝己	福岡県保健環境研究所（コア地衛研）
駒込理佳、長野秀樹	北海道衛生研究所
川上千春	横浜市衛生研究所
小淵正次、滝澤剛則	富山県衛生研究所
内野清子、田中智之	堺市衛生研究所
平良勝也	沖縄県衛生環境研究所
山下和予	国立感染症研究所 感染症情報センター
安井善宏	愛知県衛生研究所（コア地衛研）

\* 地方衛生研究所全国協議会 感染症対策部会長

### 研究要旨

2009/2010シーズンに発生したA/H1pdmN1ウイルスによるパンデミックインフルエンザ対応にあたり国立感染症研究所（以下：感染研）と地方衛生研究所（以下：地衛研）の緊密な連携をベースに国内発生当初は全数検査診断が、第1波ではウイルスサーベイランス及びオセルタミビル耐性遺伝子マーカーのサーベイランスが実施された。これらの経験をふまえ、地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会との連携のもとに協力地衛研によるコア・サポート地衛研体制を構築し、以下に列記する研究活動を行い、感染研-地衛研ネットワークによる国内インフルエンザウイルス・サーベイランスの維持強化を図った。

#### (1) 感染研・地衛研間のインフルエンザ連携検査研究体制整備

全国ブロックごとのコア地衛研 6 機関、インフルエンザ研究を長年実施し地域の特徴を有するサポート地衛研 5 機関合計 11 機関を研究協力機関として、コア・サポート地衛研体制を構築し、インフルエンザウイルス検出体制全般における感染研との連携強化の可視化を図った。

#### (2) オセルタミビル耐性サーベイランスの实地検証

平成22年度には、研究分担者の高下博士、影山博士らが新たに開発したリアルタイムRT-PCRを用いたオセルタミビル耐性変異(H275Y)検出システムの实地検証（新たな試験法の試験運用及び従来法との比較を含む検討）を担当した。全地衛研における運用の円滑化を図るため、ブロックごとにコア地衛研が中心となって全国地衛研に配備されているリアルタイムPCR機器の機種情報を更新するとともに、各ブロック内全地衛研のインフルエンザ担当者への連絡体制を確立し、マニュアル等に関する疑義など現場の声を、開発者に対して具体的にフィードバックした。その結果、臨床検体を用いる場合は本検出系の最適化が必要であることが判明した。さらに同法を用いて協力地衛研より2010/2011シーズン流行

早期にA/H1N1pdmウイルスの耐性株検出の速報がなされた。

(3)平成23,24年度には、影山博士によるウイルス遺伝子検出試験における精度管理試行に協力し、現場からのフィードバックを行うとともに、全国に拡大して実施する場合に想定される問題点等を、感染研とともに検討した。

(4)協力地衛研は、各々抗ウイルス剤感受性や抗原性変化などのハイリスク変異株サーベイランスの実施において、検査手法の検討・改善及びサーベイランス体制全般の維持強化に努めた。地衛研現場において見出された新たな知見や問題点に関して、感染研との情報交換を促進した。その結果、2010/11シーズンには国内各地で発生した高病原性鳥インフルエンザ検査対応について、感染研よりプロトコルのアップデート等追加情報がいち早く出され、現場においてマニュアル記載の従来法よりも検出感度を保持できた。2011/12シーズンには赤血球凝集(HA)活性の低い分離株に関する検討、2012/13シーズンにはHA活性に加えて亜型決定用抗血清に関するフィードバックを行っている。

(5)協力地衛研は、季節性インフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供及び関連調査研究に努め、研究会・学会発表や雑誌等への論文投稿を積極的に行った。

(6)平成24年度には、全国の地方衛生研究所を対象に、鳥インフルエンザ対応における役割を含めたインフルエンザウイルス検査体制に関するアンケート調査を実施した。

## A. 研究目的

2009年に発生したA/H1pdmN1ウイルスによるパンデミックインフルエンザは、わが国の公衆衛生・医療体制に対する試練となった。国立感染症研究所(以下:感染研)と地方衛生研究所(以下:地衛研)の緊密な連携に基づいて、国内発生前に全自治体をカバーする全数検査診断体制が確立・実施された。その後当研究班長より地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会に、地方自治体との連携による新型・季節性インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究への参画要請があり、国内におけるインフルエンザウイルス・サーベイランス体制の維持強化に必要な連携体制として各地方6ブロックのコア地衛研及びサポート地衛研5機関を基軸とした連携網が構築された。研究分担者及び協力地衛研は、3年間にわたり以下の目的をもって研究を実施した。

(1)感染研・地衛研間のインフルエンザ連携検査研究体制整備(上記)

(2)オセルタミビル耐性サーベイランスの実地検証(平成22年度)

(3)影山博士らによるウイルス遺伝子検出試験における精度管理試行への協力及び現場の視点による検討。(平成23-24年度)

(4)サーベイランスの維持強化や検査手法に関する地衛研現場で気づかれた問題点の検討、

及び感染研への伝達・提言。

(5)インフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供。

(6)インフルエンザウイルス検査体制の現状と問題点の把握。(平成24年度)

本研究から期待される主な効果は

(1)国立感染症研究所・地方衛生研究所間のインフルエンザ連携検査研究体制の維持強化。

(2)わが国におけるインフルエンザウイルス検出精度の維持向上。

(3)わが国におけるインフルエンザウイルスサーベイランス体制の維持強化による、重大な変異(例:抗原性、薬剤耐性)の迅速・正確な把握。

(4)上記の結果として、健康危機管理の一環である新型インフルエンザ及び高病原性鳥インフルエンザのヒト感染疑い事例対応発生への備え

に集約される。

## B. 研究方法

地方衛生研究所全国協議会(地全協)感染症対策部会と連携し、

1)研究活動全体の礎となる協力体制の構築:レファレンスセンター(コア地衛研)6機関に加え、助言者(サポート地衛研)5機関計11研究協力機関による体制を構築し、下記の活動に加えて班会議等による情報交換を通じ



て連携の強化を図る。

(2) オセルタミビル耐性サーベイランスの実地検証：高下、影山博士らによりリアルタイム PCR 機種毎に準備されたマニュアル、プロトコルを全国地衛研への実施に先立って試行し、実地の問題点等をフィードバックした。

(3) 影山博士らによるウイルス遺伝子検出試験における精度管理試行への協力及び現場の視点による検討。2 年間にわたり、実地試験機関として関与した。

(4) サーベイランスの維持強化や検査手法に関する地衛研現場で気づかれた問題点の検討、及び感染研への伝達・提言。インフルエンザウイルスの変異動向を把握する現場として、赤血球凝集価の上がり難い分離株の情報をいち早く提供するとともに以前の分離株との比較検討、検査法改良の試みを速やかに実行した。

(5) インフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供。別紙 4 に記したとおり、論文や学会・研究会発表に加えて、病原微生物検出情報 (IASR) 等のメディアを介する迅速な情報提供に努めた。

(6) インフルエンザウイルス検査体制の現状と問題点の把握。地全協会員 (全 79 機関) に電子メールシステムを介して、鳥インフルエンザウイルスを含むインフルエンザウイルス検査体制に関するアンケート調査を依頼し、78 機関から回答を得た。

(倫理面への配慮)

本研究で用いる臨床検体及び患者情報は、「疫学研究における倫理指針」に基づき、材料提供者および家族の個人の尊厳及び人権の尊重、個人情報の保護に配慮して実施する。症例の分析においては、個々の症例が特定できないよう配慮して行う。

## C. 研究結果

1) 感染研・地衛研間のインフルエンザ連携検査研究体制強化：22 年度に構築した全国ブロックごとのコア地衛研 6 機関、インフルエンザ研究を長年実施し地域の特徴を有するサポート地衛研 5 機関合計 11 機関を研究協力者としたコア・サポート地衛研体制は、3 シーズンとも円滑に機能した。ブロックごとにコア地衛研が中心となって全国地衛研に配備されているリ

アルタイム PCR 機器の機種情報を更新するとともに、各ブロック内全地衛研のインフルエンザ担当者への連絡体制を確立し、マニュアル等に関する疑義など現場の声を、開発者に対して具体的にフィードバックした。ブロック内の機器調査や下記アンケート調査への協力は、ほぼ 100% 得られた。

2) リアルタイム RT-PCR を用いたオセルタミビル耐性変異 (H275Y) 検出システムの実地検証 (新たな試験法の試験運用及び従来法との比較を含む検討) の結果、臨床検体を用いる場合は本検出系の最適化が必要であることが判明 (富山県、愛知県) した。さらに同法を用いて 2010/2011 シーズン流行早期に A/H1N1pdm ウイルスの耐性株検出の速報がなされた (横浜市)。

3) 精度管理試行に対しては、実施マニュアルの記載から結果の返し方にいたるまで協力者会議等の機会に詳細な検討を行い、現場の意見・コメントをフィードバックした。

4) 3 シーズンにわたり、地衛研現場の声を汲み取る形で、感染研との情報共有を進めた。2010/11 シーズンは、鳥の間で流行中の高病原性鳥インフルエンザウイルスの変異を反映する形で、既存検査プロトコルの迅速なアップデート (PCR プライマー塩基配列の変更) につながった。

2011/12 シーズンは、感染研から「インフルエンザウイルス分離・培養の際に使用する培地について」(平成 23 年 11 月 15 日) の情報提供に対して HA 測定価に同様の課題があったため検討を行い、分離培地による HA 価に差を認めなかった (堺市)。

5) 協力地衛研からのサーベイランス関連情報提供は、主に感染研が発行する病原微生物検出情報 (IASR) により速やかに行われた。東京都、横浜市、堺市からは、サーベイランス結果のまとめがいちはやく情報提供されている。本土とは異なる流行パターンを示す沖縄県からは、夏季インフルエンザの性状解析を中心とする報告がなされた。この他に調査研究成果は、F. 研究発表リストのとおり。

6) インフルエンザ検査体制アンケートには、地全協に加盟する全 79 機関中 78 機関から回答協力が得られた。概要は 24 年度報告書に記した。今後詳細な解析を予定しているが、各

自治体の厳しい現状及びサーベイランス体制維持に必要な法的根拠等を求める声が記されている。

#### D. 考察

2009年以降インフルエンザウイルス検査法としてPCR法が一般的に認識され、検体採取後6時間以内の結果還元が当然と期待されている。このためウイルス分離と赤血球凝集価による型別によるサーベイランス主体であった数年前と異なり、地衛研の現場においても感染研との間に（顔の見える者の間でのみ可能となる）高度な情報共有なしには、対応困難な場面に遭遇する機会が増えている。全国各地衛研は79機関を数えるので、他の病原体で機能しているレファレンスセンター体制の長所を取り入れる形で

感染研—コア・サポート地衛研—インフルエンザ検査を実施する全ての地衛研の間でネットワークが構築された。協力地衛研は、インフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供に努める傍ら、各ブロックの地衛研の意見や要望を拾い上げ、必要に応じて地研間及び感染研担当者と情報共有している。22-24年度の間は、薬剤耐性サーベイランスに不可欠なウイルス株分離に積極的に取り組み、精度管理の導入に向け、試行に協力した。今後はブロック内での情報共有をより一層進めるとともに、感染研から一方的に情報を受けるばかりでなく現場である地研の提言、検査法の進化・改善等を続けていく必要がある。

#### E. 結論

地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会と緊密な連絡調整を行いつつ全国ブロックごとのコア地衛研6機関、サポート地衛研5機関合計11機関の参加により、インフルエンザウイルス・サーベイランス検査研究における感染研との迅速な連携体制の維持強化を図った。

感染研が開発したリアルタイムRT-PCRを用いたオセルタミビル耐性マーカー検査法、及びインフルエンザウイルス検出試験精度管理の実地試行を担当するとともに、及び実施マニュアルの記載から結果の返し方にいたるまで協

力者会議等の機会に詳細な検討を行い、全国実施を円滑に進める準備に加わった。

協力地衛研は、インフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供及び関連調査研究に努めるとともに、地衛研現場の声を汲み取る形で、感染研との情報共有を進めた。具体的な成果として2010/11シーズンにおける高病原性鳥インフルエンザ検査プロトコルの迅速なアップデートにつながった。2011/12、2012/13シーズンにはHA価の低い分離株について問題意識を共有した。

インフルエンザ検査体制アンケートには、各自治体の厳しい現状が反映されており、将来とも新型インフルエンザや鳥インフルエンザのヒト感染疑い事例への対応可能な体制（予算、専門性の高い人材）の維持確保には、ひきつづき関係者の理解を得るよう努めなければならない。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hasegawa S, Hirano R, Hashimoto K, Haneda Y, Shirabe K, Ichiyama T. Characteristics of pandemic H1N1 influenza viral infection in atopic individuals - Pandemic H1N1 influenza reveals "occult" asthma. *Pediatric Allergy and Immunology* 22(1):119-123, 2011
- 2) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iizuka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasegawa A, Kanaya Y, Oku R, Oya T, Sata T. Histopathological and immuno-histological findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection. *Modern Pathology* 25(1):1-13, 2011
- 3) Hasegawa, S., Matsushige, T., Inoue, H., Shirabe K, Fukano, R., Ichiyama, T. Serum and cerebrospinal fluid cytokine profile of patients with 2009 pandemic H1N1 influenza virus-associated encephalopathy. *Cytokine*, 54(2) 167-172, 2011
- 4) Nakaya H, Yamamoto T, Takano M, Yamamoto K, Hujikawa Y, Morikawa S, Kase T, Shimotsuji T. Alice in Wonderland syndrome

caused by the 2009 pandemic H1N1 influenza A virus. *Pediatric Infectious Disease Journal* 30 (8) :725-726, 2011.

5) Sakai E, Yamamoto T, Yamamoto K, Mizoguchi Y, Kaneno H, Ihashi M, Takano M, Anzai K, Kase T, Shimotsuji T A case study of IgG3 deficiency regarding the severity of Influenza H1N1pdm 09 *Pediatric International* 54 (6)758-761, 2012

6) Hamada N, Imamura Y, Hara K, Kashiwagi T, Imamura Y, Nakazono Y, Chijiwa K, Watanabe H Intrahost emergent dynamics of oseltamivir-resistant virus of pandemic influenza A(H1N1)2009 in a fatally immunocompromised patient *Journal of Infection and Chemotherapy* 18 865-871, 2012

7) 長島 真美, 新開 敬行, 原田 幸子, 高野 智香, 塚本 良治, 尾形 和恵, 吉田 勲, 長谷川 道弥, 岡崎 輝江, 林志直, 貞升 健志, 甲斐 明美 新型インフルエンザウイルス A/H1N1pdm09 におけるオセルタミビル耐性遺伝子変異の検出 東京都健康安全研究センター研究年報 61:121-126, 2010

8) 池田辰也, 青木洋子, 安孫子千恵子, 水田克巳 山形県における新型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm) 検出状況 山形県衛生研究所報 43:21-23, 2010

9) 駒込理佳, 井上真紀, 長野秀樹, 工藤伸一, 岡野素彦. 北海道におけるパンデミック (H1N1) 2009 インフルエンザについて—2009/10 シーズン—

北海道立衛生研究所報 60 : 57-60, 2010

10) 堀元栄詞, 小淵正次, 小原真弓, 岩井雅恵, 滝澤剛則, 高田厚史, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 嶋尻悟志, 関口健治 インフルエンザ流行予測調査及びウイルス検出状況 (平成22年度)

富山県衛生研究所年報 34:65-73, 2011

11) 新開 敬行, 長島 真美, 吉田 勲, 原田 幸子, 尾形 和恵, 長谷川 道弥, 林志直, 甲斐 明美 インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm09) の検出法の開発と流行株における抗原解析 東京都健康安全研究センター研究年報 62:49-55, 2011

12) 長島 真美, 新開 敬行, 原田 幸子, 吉田 勲,

尾形 和恵, 長谷川 道弥, 林志直, 貞升 健志, 甲斐 明美 インフルエンザウイルスにおけるオセルタミビル耐性遺伝子変異の検出 (2010- 2011 シーズン) 東京都健康安全研究センター研究年報 62:57-63, 2011

13) 駒込理佳, 三好正浩, 長野秀樹, 岡野素彦 北海道におけるインフルエンザウイルスの流行状況—2010/11 シーズン— 北海道立衛生研究所報 61: 2011

14) 川上千春, 七種美和子 新型インフルエンザのウイルス分離と PCR 検査 *インフルエンザ* 12 (3) :239-247, 2011

15) 川上千春, 山本芳郎, 百木智子, 七種美和子, 熊崎真琴, 宇宿秀三, 高津和弘, 池淵 守, 蔵田英志 横浜市におけるインフルエンザの流行 (2009年5月~2010年5月) 横浜市衛生研究所報 49:75-82, 2011

16) 加瀬哲男 VPD(vaccine preventable diseases)のサーベイランス *総合臨牀* 60(11):218-2203, 2011

17) 竹島雅之, 續木雅子, 広瀬かおる, 判治岳史, 安井善宏, 山下照夫, 下岸協, 皆川洋子 愛知県における新型インフルエンザ A/H1N1 の発生動向とその患者特性-流行第一波における全国との比較 愛知県衛生研究所報 61:1-10, 2011

18) 安達啓一, 廣瀬絵美, 藤原範子, 伊藤 雅, 安井善宏, 小林慎一, 山下照夫, 秦 眞美, 平松礼司, 皆川洋子 遺伝子検出範囲拡大による急性呼吸器感染症患者検体からのウイルス検出感度向上の試み 愛知県衛生研究所報 62:11-18, 2012

19) 川上千春, 七種美和子 ウイルス分離と遺伝子検査 *医学のあゆみ* 241 (1) :44-49, 2012

20) 小淵正次, 堀元栄詞, 名古屋(小原)真弓, 板持(岩井)雅恵, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 星山典江, 関口健治 インフルエンザ流行予測調査 (平成23年度) 富山県衛生研究所年報 35 68-73, 2012

21) 原田 幸子, 新開 敬行, 長島 真美, 吉田 勲, 尾形 和恵, 長谷川 道弥, 林志直, 甲斐 明美 インフルエンザウイルスにおけるオセルタミビル耐性遺伝子変異の検索 (2011/2012 シーズン) 東京都健康安全研究センター研究年報 63 901-906, 2012.

- 22) 森川佐依子、加瀬哲男 ウイルス感染症検査診断の新しい展開 インフルエンザの診断臨床と微生物 39 (6) 663-667, 2012
- 23) 前田章子、森川佐依子、加瀬哲男、入江伸、廣田良夫 インフルエンザウイルス抗体価測定に関する問題点- 2006/07 シーズンワクチン株 A/広島/52/2005 (H3N2) の非特異的凝集抑制物質 (nonspecific inhibitor) 感受性に関する検討- 感染症学雑誌 86 (4) 400-404, 2012
- 24) 川上千春、渡邊寿美、清水英明、山崎雅彦、市川正孝、三田村敬子、菅谷憲夫 呼吸器感染症のウイルス病原診断 インフルエンザウイルス 臨床とウイルス 40(3)104-112, 2012
- 25) 川上千春、百木智子、七種美和子、宇宿秀三、池淵 守、蔵田英志 横浜市におけるインフルエンザの流行 (2010年8月~2011年5月) 横浜市衛生研究所報 50 75-82, 2012
- 26) 川上千春、百木智子、七種美和子、宇宿秀三、森田昌弘、水野哲宏 横浜市におけるインフルエンザの流行 (2011年9月~2012年5月) 横浜市衛生研究所報 51 61-67, 2012
- 27) 駒込理佳、三好正浩、長野秀樹、岡野素彦 北海道におけるインフルエンザウイルスの流行状況—2011/12 シーズン—北海道立衛生研究所報 62 (印刷中) 2013

## 2. 学会発表

- 1) Kawakami C et al. Detection and isolation of Pandemic (H1N1) 2009 influenza virus from stool sample. Options for the Control of Influenza VII 香港 2010年9月
- 2) 吉田勲、塚本良治、原田幸子、新開敬行 他4名 新型インフルエンザウイルスの迅速診断キットによる検出感度の比較 第25回関東甲信静支部ウイルス研究部会 神奈川県横浜市 2010年10月
- 3) 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘 胃腸炎症状をともなう AH1pdm インフルエンザウイルスの検索. 第42回日本小児感染症学会総会・学術集会 仙台 2010年11月
- 4) 川上千春、宇宿秀三、七種美和子、熊崎真琴、N Sriwilaijaroen、鈴木康夫 同一患者の咽頭および糞便検体から分離された AH1pdm インフルエンザウイルスの解析 第58回日本ウイルス学会学術集会 徳島 2010年11月
- 5) 中内美名、高下恵美ほか、全国地方衛生研究所 AH1pdm タミフル耐性株の迅速検出法の開発 第58回日本ウイルス学会学術集会 徳島 2010年11月
- 6) 安井善宏、藤原範子、小林慎一、山下照夫、藤浦明、皆川洋子 愛知県で分離した新型インフルエンザウイルス AH1pdm の分子疫学的解析 第58回日本ウイルス学会学術集会 徳島 2010年11月
- 7) 田中智之、齋藤博之、新聞敬行、倉田 毅、皆川洋子、高橋和郎、調 恒明、平良勝也 Ligase Chain Reaction (LCR) 法を用いた簡便なオセルタミビル耐性鑑別法の開発 第58回日本ウイルス学会学術集会 徳島 2010年11月
- 8) 西口智子、内野清子、三好龍也、佐多徹太郎、田中智之 新型インフルエンザ関連死亡例の検討 第58回日本ウイルス学会学術集会 徳島 2010年11月
- 9) 藤原範子、安井善宏、秦眞美、(ほか6名)、皆川洋子 新型インフルエンザ (AH1pdm) 第一波のウイルス性状解析 平成22年度愛知県公衆衛生研究会 愛知県大府市 2011年1月
- 10) 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘 ペラミビル治療患者より検出された H275Y 遺伝子変異をもつ A/H1N1pdm インフルエンザの症例 第52回日本臨床ウイルス学会 津 2011年6月
- 11) Kawakami C、Takashita E、(ほか7名)、Odagiri T、Tashiro M. Neuraminidase inhibitor-resistant influenza A viruses detected in the 2011/11 season in Yokohama, Japan. 15th International Congress of Virology PO-35-14 札幌 2011年9月
- 12) Nakata K、Kojimahara N、Ohfuji S、Hirota Y、Kase T. The association between viral load in nasopharyngeal-throat swab and clinical characteristics among patients with pandemic H1N1 2009 influenza infection. 15th International Congress of Virology PO-55-15 札幌 2011年9月
- 13) Xu H、Kishida N、Takashita E、Fujisaki S、Ito R、Doi T、Sugawara H、Ejima M、Kim N、Tashiro M、Odagiri T, The Influenza Virus Surveillance Group