

また、4月12日にWHO GISRS (Global Influenza Surveillance and Response System) に今回構築した H7 亜型検出法プロトコルを情報共有し、検査キット配布希望のあった6カ所の National Influenza Center には遺伝子検査用試薬、プライマー、プローブ、陽性コントロールを送付した。(添付資料1)

D.E. 考察ならびに結論

海外で新型インフルエンザが発生した際には、国内でもすぐに流行する事が想定されるため、全国規模の遺伝子検査体制を迅速に整備する必要がある。

今回、中国で分離された鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスを入手する前に、当センターのウイルスライブラリーから検査で必要となる陽性コントロールに使用可能なウイルス株を見つける事ができたため、速やかに real-time RT-PCR 検出系を構築する事ができ、また検査キットの全国配布の際に、この陽性コントロールを使用する事ができた。このことから、今後、「新型インフルエンザウイルス系統調査・保存事業」や「感染症流行予測事業」による鳥およびブタインフルエンザウイルスのライブラリーの拡充は、わが国の新型インフルエンザ対策において非常に重要である。

また、2012年度には、全国74地方衛生研究所を対象としたウイルス遺伝子同定検査に関する技術研修が実施されていたことや、毎年開催している全国16カ所の検疫所を対象とした技術研修等により、各地方衛生研究所および検疫所の担当者が、核酸検出検査に関して精通しており、全国規模の鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検査体制整備も円滑に進んだと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nobuhiro Takemae, Tung Nguyen, Long

Thanh Ngo, Yasuaki Hiromoto, Yuko Uchida, Vu Phong Pham, Tsutomu Kageyama, Shizuko Kasuo, Shinichi Shimada, Yasutaka Yamashita, Kaoru Goto, Hung Vo Van, Do Thi Hoa, Tsuyoshi Hayashi, Aya Matsuu, Takehiko Saito. Antigenic variation of H1N1, H1N2 and H3N2 swine influenza viruses in Japan and Vietnam. Archives of Virology 158(4):859-876, 2013

- 2) Tsutomu Kageyama, Seiichiro Fujisaki, Emi Takashita, Hong Xu, Shinya Yamada, Yuko Uchida, Gabriele Neumann, Takehiko Saito, Yoshihiro Kawaoka, Masato Tashiro. Genetic analysis of novel avian A(H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013. Euro Surveill. 18(15). 20453-20468, 2013. Erratum in: Euro Surveill. 18(16):20459, 2013.
- 3) Miho Kobayashi, Ikuyo Takayama, Tsutomu Kageyama, Hiroyuki Tsukagoshi, Mika Saitoh, Taisei Ishioka, Yoko Yokota, Hirokazu Kimura, Masato Tashiro, Kunihisa Kozawa. Novel Reassortant Influenza A(H1N2) Virus Derived from A(H1N1)pdm09 Virus Isolated from Swine, Japan, 2012. Emerg Infect Dis. 19(12):1972-1974, 2013

2. 学会発表

国内会議

- 1) 大場邦弘, 田中智子, 小田智三, 高山郁代, 中内美名, 影山 努. マイクロ流路チップを用いた Direct RT-LAMP 法によるインフルエンザおよび RS ウイルス感染症診断の臨床的検討. 第 62 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京. 2013年10月

- 2) 林 健太, 加藤昭生, 大場邦弘, 小鍛治雅之, 高橋 仁, 高山郁代, 中内美名, 影山 努. インフルエンザ A/H3N2 感染を契機に発症した横断性脊髄炎の 4 歳男児. 第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 札幌. 2013 年 10 月
- 3) 影山 努, 高橋 仁, 高山郁代, 中内美名, 田代真人, 大場邦弘, 改田 厚, 久保英幸. Direct RT-LAMP 法によるマイクロ流路チップを用いたインフルエンザおよび呼吸器感染症ウイルスの同定について. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
- 4) 改田 厚, 久保英幸, 山元誠司, 入谷展弘, 天羽清子, 影山 努. 乳幼児呼吸器感染症からのコロナウイルス検出. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
- 5) 高橋 仁, 田中仁喜, 西村研吾, 高山郁代, 中内美名, 永田志保, 小林美栄, 藤博幸, 大西和夫, 横田(恒次)恭子, 田代真人, 影山 努. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H5N1 インフルエンザ迅速診断法構築の検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
- 6) 高山郁代, 中内美名, 高橋 仁, 田代真人, 影山 努. 鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出系の構築および喀痰検体の前処理についての検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
- 7) 小林(石原)美栄, 高橋 仁, 西村研吾, 高山郁代, 大西和夫, 板村繁之, 影山 努, 横田(恒次)恭子. H5N1 インフルエンザウイルス高感度検出系開発に向けた H5HA 特異的抗体のエピトープ解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
- 8) 中内美名, 高山郁代, 高橋 仁, 大場邦弘, 田代真人, 影山 努. B 型インフルエンザウイルス Victoria 系統・Yamagata 系統の real-time RT-PCR 法を用いた識別検出法の構築. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
- 国外会議
- 1) Atsushi Kaida, Hideyuki Kubo, Nobuhiro Iritani, Koh-ichi Takakura, Jun-ichiro Sekiguchi, Minoru Ohyama, Urara Kohdera, Masao Togawa, Kiyoko Amo, Masashi Shiomi, Seiji P Yamamoto, Kaoru Goto, Atsushi Hase, Tsutomu Kageyama. High Proportion of Multiple Infections with Respiratory Viruses in Young Children with Acute Respiratory Tract Infections. European Congress of Virology 2013. Lyon. September. 2013
- 2) Hitoshi Takahashi, Kazuo Ohnishi, Kengo Nishimura, Ikuyo Takayama, Mina Nakauchi, Shiho Nagata, Yasuko Tsunetsugu-Yokota, Masato Tashiro, Tsutomu Kageyama. Development of monoclonal antibodies specific for H5 HA and their application to rapid detection of influenza A/H5N1 virus. Options for the Control of Influenza VIII, Cape Town, 5-10 September 2013.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

添付資料 1

鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスへの検査関連対応

2013年3月31日	中国で発生した3例について、全長シーケンスが公開
中国からの分離株到着前	系統保存および流行予測事業で集められた鳥・ブタインフルエンザウイルスライブラリーにあった国内分離株から陽性コントロール株を選出 ユーラシア系統H7亜型のHA遺伝子検出系のプライマー、プローブを設計
4月10日	中国CDCより、A/Anhui/1/2013ウイルス株が到着→構築した検出系の感度確認
4月11、12日	地衛研・検疫所用、プライマー、プローブ発注
4月12日	全国74地衛研および16検疫所へ、乾燥化した陽性コントロールを感染研から発送 WHO GISRS (Global Influenza Surveillance and Response System) 内でH7検出系プロトコルの情報提供を行った
4月16日	全国74地衛研および16検疫所へ遺伝子検査用試薬、プライマー、プローブが配布完了 (各メーカーより直送) 地衛研へ、「鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルス検出マニュアル (第1版)」をメーリングリストにて送付
4月中	海外6カ所のNational Influenza Centerへ遺伝子検査キットの送付完了
5月22日	感染研HPで、一般向けに遺伝子検査マニュアルの公開ならびに、それに関する質問フォームの開設
5月23日	国内で販売されている20の迅速診断キットへの反応性に関する検討結果をHPで公開
6月21日	「鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルス検出マニュアル (第2版)」を公開 (RT-LAMP法追記)
7月3日	遺伝子検査をより正確に行うためのタグ入り陽性コントロールを作成し、地衛研へ配布

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

研究分担者 鈴木康夫 中部大学 教授

研究要旨 これまで開発してきたイムノクロマト技術による鳥インフルエンザウイルスのヒト型レセプター結合特異性獲得変異の簡便・迅速測定キットを海外（H5N1 発生国でヒトへ伝播が起こっている国、エジプト、ベトナムなど）にも適用し、ヒト型レセプター結合性変異獲得を実際に監視する体制を構築した。これに加えて、高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト型レセプター結合性獲得変異を高感度に検出する糖鎖マイクロアレイの試作デバイスを開発した。このデバイスは、高感度、短時間に鳥型、ヒト型レセプター結合特異性を検出できるのみならず、20 種類の異なるシアロ糖鎖構造に対する結合特異性も検索可能である。また、A, B 型インフルエンザウイルスのヘマグルチニンおよびノイラミニダーゼの両者を阻害する全く新しい阻害機構を持つインフルエンザウイルスレセプター疑似分子を開発した。この分子は、今後発生するパンデミックインフルエンザにも適応できるものであり、感染予防、治療の療法に効果を発揮できるものである。これらの技術、新規分子は、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適用出来るものであり、展開が期待される。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1）のヒトへの伝播は、鳥ウイルスのヒト型レセプターへの結合性変異が第一義的に重要であるが、それを簡便に監視する技術は開発されていない。さらに、ウイルスの変異を克服した次世代の抗インフルエンザ薬も開発されていない。そこで、本研究では、(1) 鳥インフルエンザウイルスのヒト型シアロ糖鎖レセプター結合変異を簡便且つ高感度に監視する技術を開発する、(2) ウイルスの宿主細胞レセプターへの結合を阻止する新しい機構を持つ抗インフルエンザ薬開発の基盤を創成することを目的とする。

B. 研究方法

20 種類の合成シアロ糖鎖をガラスチップに結合させ、エバーネッセント光にてインフルエンザウイルスとの結合を測定する高感度シアロ糖鎖マイクロアレイを構築した。さらに、全ての A, B 型インフルエンザウイルスヘマグルチニンと結合できるインフルエンザウイルスレセプター疑似分子 (A) を合成し、ヘマグルチニンおよびシアリダーゼ活性阻害評価を行った。A はヒト型レセプターシアロ糖鎖（Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4Gal β 1-4GlcNAc）、ポリグルタミン酸、ウイルス脂質二重膜への取り込みをもたらす長鎖アルキル鎖を含有する。

(倫理面への配慮)

該当無し。

C. 研究結果

1. これまで開発してきたイムノクロマト技術による鳥インフルエンザウイルスのヒト型レセプター結合特異性獲得変異の簡便・迅速測定キットを海外（エジプト、ベトナムなど）にも適用し、ヒト型レセプター結合性変異獲得を実際に H5N1 発生国でも監視する体制を構築した。

2. H5N1 ウイルスのヒト型レセプター結合性獲得変異を高感度に検出する糖鎖マイクロアレイの試作デバイスを開発した。このデバイスは、1-4HAU のウイルス量、3 時間の反応時間で鳥型、ヒト型レセプター結合特異性を検出できるのみならず、20 種類の異なるシアロ糖鎖構造に対する結合特異性も検索可能であった。

3. A 化合物の抗インフルエンザウイルス活性

2009 年世界流行となった新型インフルエンザウイルス (A/Narita/1/2009 (H1N1)) を用いて A 化合物の抗ウイルス活性を測定した。A は当初想定していたウイルスヘマグルチニン (HA) の機能阻害に加えてノイラミニダーゼ (NA) スパイクの機能阻害活性も持つことが判明した。HA 機能 (赤血球凝集) 阻害活性 (HAI 活性) は、陽性対照として用いたフェツイン (ウシ胎児血清に存在するシアロ糖タンパク質、HAI unit: 63 ug/ml) の約 500 倍も強い活性 (HAI unit: 125 ng/ml) を確認した。NA 機能 (シアロ糖鎖の非還元末端に存在するシアル酸を加水分解するシアリダーゼ活性) 阻害 (IC50) は、0.6nM であり、陽性対照として用いた Oseltamivir (インフルエンザウイルスノ

イラミニダーゼ阻害剤) とほぼ同程度の強い活性を示した。ウイルスの感染阻害活性 (IC50) をウイルス抗原の発現抑制を指標に調べたところ 43.0 nM であり、強力な抗インフルエンザウイルス活性を持つことを見いだした。さらに、A は、用いた 2009 年パンデミックウイルスと結合することも確認した。A 化合物は、他の A, B 型インフルエンザウイルス (未発表) にも同様な阻害活性を示し、広域性を持つウイルス阻害剤、ウイルス吸着剤であることを確認した。以上、本研究で構築した A 化合物は、ヒトインフルエンザウイルスの HA および NA の両機能 (ウイルスの宿主細胞への吸着、進入、および、宿主細胞からの出芽) を阻害する、全く新しい阻害機構を有する強力なインフルエンザ阻害分子、インフルエンザウイルス吸着剤であることが明らかとなった。

D. 考察

本年度は、これまで開発してきたイムノクロマト技術による H5N1 ウイルスのヒト型レセプター結合特異性獲得変異を簡便且つ迅速に測定するキットを海外 (H5N1 発生国、エジプト、ベトナムなど) にも適用し、ヒト型レセプター結合性変異獲得を実際に監視する体制を構築した。これに加えて、より高感度、かつ鳥ウイルスのヒト型レセプターシアロ糖鎖構造認識特異性も同時に検出可能なシアロ糖鎖マイクロアレイデバイスを開発した。これらは世界初であり、これまでの遺伝子、抗原性の監視に加えて高い意義を持つ。また、今回、新たに発見したインフルエンザウイルス HA, NA 阻害分子 (A) は、全く新しい機構による抗インフルエンザ剤で、タミフル耐性株にも有効であり、耐性株の発現も今のところ見られないことから、次世代の抗インフルエンザ薬

候補として有効であることが期待される。

E. 結論

1) これまでに開発した H5N1 のヒト型レセプター結合性獲得変異を高価な機器、複雑な操作無しで、迅速に検出するデバイス(キット)を H5N1 がヒトへも伝播している海外(エジプト、ベトナム、他)にも適用し、ヒト型レセプター結合性変異獲得を実際に監視する体制を構築した。2) これに加えて、H5N1 ウイルスのヒト型レセプター結合性獲得変異を高感度に検出する糖鎖マイクロアレイの試作デバイスを開発した。3) A, B 型インフルエンザウイルスの HA および NA の両者を阻害する全く新しい阻害機構を持つインフルエンザウイルスレセプター疑似分子を開発した。4) これらの技術、新規分子は、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適用出来るものであり、展開が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nongluk Sriwilaijaroen, Yasuo Suzuki: Molecular Basis of a Pandemic of Avian-type Influenza Virus. Methods and Protocols, Part 4: Overview. "*Lectins*"/*Methods in Molecular Biology* (Humana Press), in press (2014).
2. Nongluk Sriwilaijaroen, Yasuo Suzuki: A Simple Viral Neuraminidase-based Detection for High-throughput Screening of Viral Hemagglutinin-host Receptor Specificity. Chapter 10. "*Lectins*"/*Methods in Molecular Biology* (Humana Press), in press (2014).
3. Ryuta Ueda, Tadao Sugiura, Shinichiro Kume, Akihiko Ichikawa, Steven Larsen, Hideaki Miyoshi, Hiroaki Hiramatsu, Yasuko Nagatsuka, Fumihito Arai, Yasuo Suzuki, Toshio Hirabayashi, Toshio Fukuda, Ayae Honda: A novel single virus infection system reveals that

influenza virus preferentially infects cells in G1 phase. *PLoS ONE* 8(7): e67011/journal.pone.0067011 (2013).

4. Qing Li, Jianxun Qi, Yan Wu, Hiromasa Kiyota, Kosuke Tanaka, Yoshitomo Suhara, Hiroshi Ohrui, Yasuo Suzuki, Christopher Vavricka, and George Fu Gao : Functional and structural analysis of influenza neuraminidase N3 offers further insight into the mechanisms of oseltamivir-resistance. *J. Virology*, 87, 10016-10024 (2013).

2. 学会発表

1. 渡邊洋平、Madiha S. Ibrahim, 大道寺 智、荒井泰葉、平松宏明、中屋隆明、鈴木康夫、生田和良：エジプトにおける患者由来 H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス HA 遺伝子の変異解析。第 61 回日本ウイルス学会学術集会(11 月 12 日)、神戸 11 月 10-12 (2013)

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。

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 -中国で発生した H7N9 亜型鳥インフルエンザのウイルス学的性状解析-

研究分担者 西藤岳彦

(独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所

研究要旨

2013 年 3 月に中国で報告された H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルスのヒト感染事例に関して、ヒトから分離された H7N9 亜型ウイルス(A/Anhui/1/2013)の遺伝的性状、鶏、ハト、ウズラに対する感染性を検討した。A/Anhui/1/2013 は、国内で 2011 年に野生のカモから分離された同亜型のウイルスとは遺伝的に明確に区別された。本ウイルスは、ウズラに対して高い感染性を示すことが明らかにされた。

A. 研究目的

2013 年 3 月 31 日に中国政府機関から、3 例の H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染事例からウイルスが分離されたとの報告があった。初発例は上海の 87 歳の男性で 2013 年 2 月 19 日に呼吸器症状を認め、3 月 4 日に死亡、第 2 例は 2 月 27 日に発症し、3 月 10 日に死亡した 27 歳の男性、3 例目は、3 月 15 日に発症した安徽省の 35 歳の女性であった。その後 5 月 6 日までに感染者 131 名、死亡者 32 名が報告されたが、5 月 21 日までに新たな発生が無かったことを受け中国政府は同日流行の制圧を宣言した。しかしながら、8 月 13 日までにさらに 5 名の感染と 15 名の死亡が報告された。その後 9 月には感染者の報告が無くなったが、10 月以降感染が再燃し、2014 年 1 月 29 日時点で、感染者 238 名、死亡者 56 名が確認され、パンデミックウイルスの出現が懸念されている。

中国からの生鳥、家禽生産物の輸入は、

同国での H5N1 亜型鳥インフルエンザ発生報告以来禁止されている為、家禽を介した同ウイルスの国内への侵入の可能性は大変低い為、一方で本ウイルスによるパンデミックが発生した際には、本来家禽に由来するウイルスである為、人から家禽への逆伝播の可能性があり、特に H7 亜型鳥インフルエンザウイルスは家畜伝染病予防法上の法定伝染病であることから、家禽での発生阻止は、家畜衛生の立場からも重要な課題である。

本研究では、ヒトから分離された H7N9 亜型ウイルス(A/Anhui/1/2013)の赤血球凝集素(HA)遺伝子の遺伝性状を野鳥由来のウイルスと比較するとともに、鶏、ハト、ウズラに対する感染性、ウイルス排泄を解析した。

B. 研究方法

(1)国内で野生のカモ類分離された H7 亜型ウイルス 8 株の HA 遺伝子の塩基配列を決定し、系統樹解析によって

A/Anhui/1/2014 株との遺伝的関連を検討した。

(2) H7N9 亜型インフルエンザウイルス A/Anhui/1/2013 株 $8.2\log_{10}\text{EID}_{50}/200\text{ul}$ を鶏 12 羽に静脈内接種し、10 日間観察し、鶏に対する病原性を検討した。

(3) 鶏、ウズラ、ハトに $10^6, 10^4, 10^2$ $\text{EID}_{50}/200\text{ul}$ の A/Anhui/1/2013 株を経鼻接種し、10 日間経過を観察すると共に、経時的に口腔（鶏は気管）及びクロアカスワブを採取し、スワブ中のウイルス力価を発育鶏卵を用いて測定した。

C. 研究結果と考察

2011 年以降、国内で野鳥から分離された H7 亜型ウイルス 8 株の HA 遺伝子は、A/Anhui/1/2014 株同様、ユーラシア系統に属していた。しかしながら、A/Anhui/1/2014 株の HA 遺伝子とは、同じユーラシア系統ながら明らかに異なるクレードに属していることが明らかになり、A/Anhui/1/2014 株との遺伝的関連は否定された。

静脈内接種による鶏に対する病原性試験の結果、12 羽中 11 羽が 10 日間の観察期間中生残した。接種 10 日目の気管スワブからはウイルス排泄は認められなかったが、クロアカからは平均 $3.6\log_{10}\text{EID}_{50}/\text{ml}$ のウイルス排泄が認められた。また、生残した 11 羽については、観察終了時点で血中の抗インフルエンザウイルス抗体が陽性であった。死亡した個体の肺では、免疫組織化学的検索により、ウイルス抗原が確認されたが、病変は認められなかった。

$10^6, 10^4, 10^2$ $\text{EID}_{50}/200\text{ul}$ の A/Anhui/1/2013 株を経鼻接種した鶏では、接種量依存性の感染が認められた。すなわち、 10^6EID_{50} 接種群では 100%、 10^4EID_{50} 接種群では 50%、

10^2 EID_{50} 接種群では、0%の感染率であった。一方、ウズラでは全ての群において全ての群において、感染が認められた。ハトでは感染率と接種容量に関連は見られず、また、感染率も 50%以下であった。

D. 結論

ヒトから分離された H7N9 亜型ウイルス A/Anhui/1/2031 は、家禽（鶏、ウズラ、ハト）に対して、病原性が低い。ウイルスに対する感受性は、3 種類の家禽の中ではウズラが最も高い。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Tokiko Watanabe et al., Nature. 2013 26:501(7468):551-5
- Kageyama T, Euro Surveillance, 11:18(15), 2013

2. 学会発表

- 中国の人から分離された H7N9 亜型インフルエンザウイルスの家禽における性状解析

内田裕子、彦野弘一、金平克史、竹前喜洋、信澤枝里、田代真人、西藤岳彦
第 61 回日本ウイルス学会学術集会

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

「仙台とフィリピンで流行した Influenza C virus の流行動態把握 とウイルスの性状比較および分子進化の検討」

研究分担者：押谷 仁 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究協力者：小田切 崇 東北大学大学院医学系研究科

岡本 道子 東北大学大学院医学系研究科 助教

研究要旨

2008 年から 2012 年に仙台市内で流行した Influenza C virus と、2009 から 2013 年にフィリピンで流行した同ウイルスの HE および内部遺伝子の分子生物学的解析を行った。仙台、フィリピンともに研究期間中に分離されたウイルスでは抗原性の変化は見られなかったが、異なるリアソートメントを起こしながらそれぞれの地域で流行していることが示唆された。

A. 研究目的

Influenza C virus (FluC) は上気道炎の起因ウイルスの 1 つであり、我が国では 1 年おきに流行することが知られている。しかし日本以外での検出報告は極めて少なく、未だその実態は不明な部分も多い。本研究では 2011 年にフィリピンで初めて分離に成功した事例を含め、仙台(日本)とフィリピンで検出された FluC の抗原性やウイルス学的性状を解析した。

B. 研究方法

2008 年から 2012 年に急性呼吸器疾患で仙台市内の小児外来施設を受診した患者から咽頭拭い液を採取した。フィリピンでは 2009 年から 2013 年に医療機関においてインフルエンザ様疾患および重症肺炎と診断された小児から鼻咽頭拭い液を採取した。MDCK 細胞に接種後、FluC が分離できた検体に関し、再度検体を発育鶏卵に接種しウイルスを分離した。抗原解析はモノクローナル抗体による赤血球

凝集阻止試験にて行い、その後 HE および内部遺伝子の塩基配列を確定し、遺伝子の解析を行った。

C. 研究結果

同研究期間中仙台では 2008 年と 2012 年に計 7 株、フィリピンでは 2011 年と 2013 年に計 12 株の FluC の分離に成功し、これら 19 株を対象に抗原解析と遺伝子解析を行った。仙台、フィリピンともに全ての分離株がサンパウロ系統に属しており、研究期間中に両国内でのウイルスに抗原性の変化はなかった。Neighbor-Joining 法で作成した HE (図 1) の系統樹でも、全ての分離株がサンパウロ系統に属することが裏付けられたが、仙台株とフィリピン株では異なる Sub-clade に分けられた。また内部遺伝子の系統樹解析から、研究期間中に分離された 19 株は全てリアソータメントであった。加えて、PB2、NP 遺伝子で仙台株(2008、2012 年)とフィリピン株(2011、2013 年)とが異なる系統に属したことから、仙台株とフィリピン株は異なるリアソートメ

ントを起こしながら、それぞれの地域で流行していることが判明した。

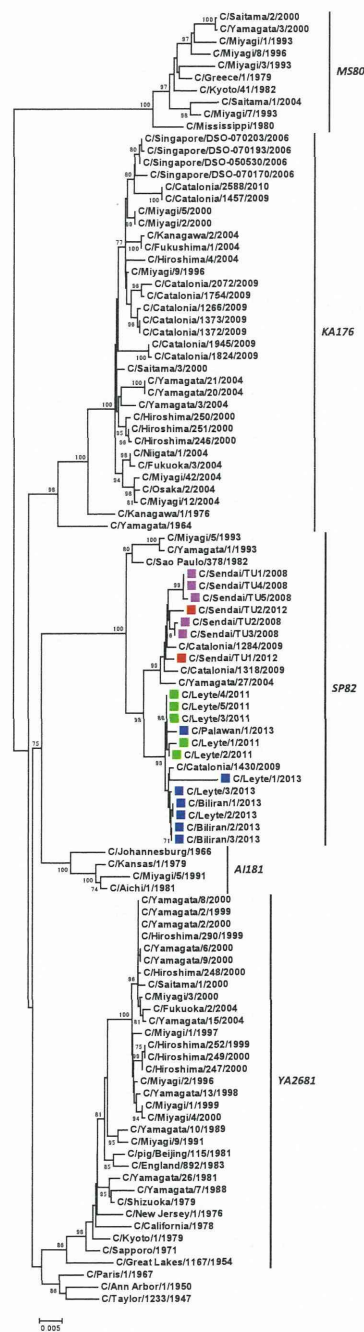


図1 HE 遺伝子の系統樹(NJ法)

D. 考察

日本では1年おきに流行すると考えられているFluCだが、これまでの観察から日本のみでなく熱帯地域に属するフィリピンでも1年おきに流行する可能性がある。

2011、2013年のフィリピン株はウイルスの

内部遺伝子構成が2000年に流行がみられた神奈川系統のウイルスの内部遺伝子構成と同じであったことから、リアソートメントがフィリピンで起きたと仮定すると、同じ遺伝子構成をもつ株がフィリピンでも存在していた可能性が示唆された。

E. 結論

FluCは乳幼児感染において重篤な肺炎症状を引き起こす可能性があることから、その流行動態を明らかにすることは公衆衛生上、非常に重要である。日本とフィリピンのFluCは、内部遺伝子は異なるものの、同じ抗原性を持つウイルスが検出されていることから、A型、B型とともにFluCのモニタリングもまた重要であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kamigaki T, Seino J, Tohma K, Nukiwa-Soma N, Otani K, Oshitani H. Investigation of an Influenza A (H3N2) outbreak in evacuation centres following the Great East Japan earthquake, 2011. BMC Public Health. 2014 Jan 14;14(1):34. doi: 10.1186/1471-2458-14-34.

2. Khandaker I, Suzuki A, Kamigaki T, Tohma K, Odagiri T, Okada T, Ohno A, Otani K, Sawayama R, Kawamura K, Okamoto M, Oshitani H. Molecular evolution of the hemagglutinin and neuraminidase genes of pandemic (H1N1) 2009 influenza viruses in Sendai, Japan, during 2009-2011. Virus Genes. 2013 Sep 29. [Epub ahead of print].

2. 学会発表

Takashi Odagiri, Yoko Matsuzaki, Michiko Okamoto, Akira Suzuki, Hidekazu

Nishimura, Mariko Saito, Raita Tamaki, Edelwisa Segubre-Mercado, Amado Tandoc, Socorro Lupisan, Seiji Hongo, Hitoshi Oshitani. Molecular Characterization of Influenza C Viruses Isolated in the Philippines, 2011-2013. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections. Jan 2013.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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

研究分担者 堀本泰介 東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授

研究要旨

過去のインフルエンザパンデミックウイルスは、豚を中間宿主として発生した。本研究では、豚以外の哺乳動物がパンデミックウイルス誕生の中間宿主となる可能性を明らかにする一環として、野生動物および伴侶動物のインフルエンザウイルス感染について血清疫学解析を実施している。本年度は、実際に H5N1 高病原性鳥インフルエンザの汚染国であるインドネシアの野良猫について調査した。その結果、H5N1 ウイルス特異抗体陽性個体を 2 頭検出した。さらに、1 頭からはヒト H1N1 ウイルス抗体も検出した。これらの結果は、猫が新たなパンデミックウイルス出現の混合宿主になりうる可能性を示すものである。

A. 研究目的

インフルエンザは人や鳥に限らず他の動物にも見られる感染症である。例えば、産業動物である豚や馬のインフルエンザは、時に経済的被害を与え、犬や猫の伴侶動物にもウイルスは感染する。また、高病原性 H5N1 鳥ウイルスに感染した野生動物も数多く見つかっている。本年度は、豚以外の哺乳動物が、新たなパンデミックウイルスを作り出す中間宿主になりうるかどうかを更に検証するため、現時点でも H5N1 高病原性鳥インフルエンザの継続的な発生が見られているインドネシアにおいて、野良猫のインフルエンザウイルス感染を調査することを目的とした。

B. 研究方法

インドネシア Airlangga 大学の CA Nidom 博士の協力を得て、インドネシアの Jakarta

Jakarta、West Java 州 Bandung、Banten 州 Tangerang、East Java 州 Surabaya において野良猫 15 頭を捕獲採血し、血清検体を得た。これらの猫は近くの民家や市場などに自由に出入りする環境下にいた。採取した血清サンプルについて、非働化および RDE 処理の後、各 clade の H5N1 鳥ウイルスおよびヒトインフルエンザウイルスを抗原としたマイクロ中和試験法により、インフルエンザウイルス特異抗体を検索した。高病原性ウイルスの取り扱いは、東京大学医科学研究所ウイルス感染分野 BSL3 実験室にて実施した。

（倫理面への配慮）

本研究は、猫の血清検体のみを対象にし、人血清検体を用いていないため倫理審査には該当しない。

C. 研究結果

(1)猫血清 15 検体中 2 検体から H5N1 特異中和抗体を検出した (陽性率 13.3%)。 (2)各 clade の H5N1 ウイルスを用いた抗原交叉性試験により、陽性検体はいずれも clade 2.1.3. のウイルスと強く反応した。中和抗体価はそれぞれ 512 倍と 64 倍であり、その他の clade の H5N1 ウイルスに対しては全てそれ以下の中和抗体価であった。 (3)別の 1 検体から 2009 H1N1pdm ウイルスに対する中和抗体を検出した (陽性率 6.7%)。抗体価は 16 倍であった。この検体は弱いながら季節性 (ソ連型) H1N1 ウイルスとの反応も見られた (8 倍)。 (4)季節性 H3N2 ウイルスに対しては全て陰性であった (8 倍以下)。

D. 考察

過去に、数例ではあるが猫に H5N1 ウイルスが感染したことがタイなどで報告されている。今回、インドネシアの猫 2 頭に clade 2.1.3. の H5N1 ウイルスが感染していたことが明らかになった。この clade はインドネシアに広く侵淫している H5N1 ウイルスと一致する。興味深いことに、これら抗体陽性猫は市場で捕獲された個体であることから、そこで取引されていた鳥類からの感染が疑われる。少なくとも、インドネシアでは、H5N1 ウイルスに感染した猫が人間と自由に接触できる環境であることは明らかである。

一方、ヒトインフルエンザウイルスに感染した猫も 1 頭見つかった。特に、呼吸器症状を示しているという状態ではなく、感染に耐過した個体であると思われるが、その抗体価の低さからウイルスの体内での増殖は決して高くはないものと推測する。昨年度、本研究で実施した国内のペット猫の調査でも、季節性 H3N2 あるいは H1N1pdm ウイルスに感染した個体が 1 頭ずつ見つかったが、やはり後者の個体における抗体価は低いものであった。

たが、やはり後者の個体における抗体価は低いものであった。

これらの結果から、猫は H5N1 ウイルスにもヒトのウイルスにも感染することは明らかである。したがって、猫の体内で人にパンデミックを引き起こす潜在性を持つ変異ウイルスが生み出される可能性は十分にあると推測する。特に、感染に耐過したことは、逆に感染個体の検出は難しいということの意味しており、感染時のウイルス排出による他の個体へのウイルス伝播の潜在性が高くなる。そういった野良猫が近くの養鶏場への感染源になる可能性は否定できない。また、野良猫が backyard で斃死した鳥を捕食することによりウイルスに感染し、ウイルスを排出しながら養鶏場に近づいた結果、直接的あるいは間接的な感染源になる可能性はある。また、感染した猫が民家に侵入し、居住する人への感染源になる可能性も考えられる。

E. 結論

猫は H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスに感染し、ウイルスの運び屋になりうる可能性がある。また、鳥ウイルスが哺乳類に馴化する母体にもなりうると考えられる。一方、猫はヒトインフルエンザウイルスにも感染する。つまり、チャンスさえあれば、豚と同様これら伴侶動物が鳥インフルエンザウイルスとヒトインフルエンザウイルスの遺伝子交雑体の作製母体になる可能性はあると考えられる。総じて、インフルエンザパンデミック対策における猫の公衆衛生学的重要性を考慮すべきである。

F. 研究発表

1. 論文発表

Gen F, Yamada S, Kato K, Akashi H, Kawaoka Y, Horimoto T: Attenuation of an influenza A

virus due to alteration of its hemagglutinin-neuraminidase functional balance in mice. Archives of Virology 158: 1003-1011, 2013.

Ozawa, M., Shimojima M, Goto H, Watanabe S, Hatta Y, Kiso M, Furuta Y, Horimoto T, Peters NR, Hoffmann MF, Kawaoka Y: A cell-based high-throughput screening system for influenza A viral RNA transcription/replication inhibitors. Scientific Reports 3:1106, 2013.

Horimoto T, Gen F, Murakami S, Iwatsuki-Horimoto K, Kato K, Akashi H, Hisasue M, Sakaguchi M, Kawaoka Y, Maeda K. Serological evidence of infection of dogs with human influenza viruses in Japan. Veterinary Records (in press).

2. 学会発表

前田健、下田宙、米満研三、寺田豊、野口慧多、高野愛、小寺祐二、竹田努、小野文子、高井伸二、吉川泰弘、岩附研子、河岡義裕、堀本泰介：野生イノシシにおけるA型インフルエンザウイルス感染 第156回日本獣医学会 2013. 9. (岐阜)

光井英晃、玄文宏、須田遊人、加藤健太郎、明石博臣、河岡義裕、堀本泰介：A型インフルエンザウイルス (H1N1) のHA遺伝子非コード領域の機能解析 第156回日本獣医学会 2013. 9. (岐阜)

光井英晃、玄文宏、須田遊人、加藤健太郎、明石博臣、河岡義裕、堀本泰介：A型インフルエンザウイルス (H1N1) のHA遺伝子非コード領域の機能解析 第61回日本ウイルス学会 2013. 11. (神戸)

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

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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.	Global Progress Toward Measles Eradication and Prevention of Rubella and Congenital Rubella Syndrome.	J Infect Dis.	204(S1)	24-27	2011
Suzuki, K., Koyama, T., Yingsakmongkon, S., Suzuki, Y., Hatano, K., Matsuoka, K.	Synthesis and biological evaluation of sialic acid derivatives containing a long hydrophobic chain at the anomeric position and their C-5 linked polymers as potent influenza virus inhibitors.	Bioorganic & Medicinal Chemistry,	20	446-454	2012
N.Takemae, Tung Nguyen, Long Thanh Ngo, Y. Hiromoto, Y. Uchida, Vu Phong Pham, T. Kageyama, S.Kasuo, S.Shimada, Y.Yamashita, K.Goto, Hung Vo Van, Do Thi Hoa, T. Hayashi, A.Matsuu, T.Saito.	Antigenic variation of H1N1, H1N2 and H3N2 swine influenza viruses in Japan and Vietnam.	Archives of Virology	158(4)	859-876	2013
Gen F, Yamada S, Kato K, Akashi H, Kawaoka Y, Horimoto T	Attenuation of an influenza A virus due to alteration of its hemagglutinin-neuraminidase functional balance in mice.	Arch. Virol.	158(5)	1003-1011	2013
Kageyama, T., Fujisaki, S., Takashita, E., Xu, H., Yamada, S., Uchida, Y., Neumann, G., Saito, T., Kawaoka, Y., Tashiro, M.	Genetic analysis of novel avian A(H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013	Euro Surveillance	18(15)	20453-20468	2013
Ozawa, M., Shimojima M, Goto H, Watanabe S, Hatta Y, Kiso M, Furuta Y, Horimoto T, Peters NR, Hoffmann MF, Kawaoka Y	A cell-based high-throughput screening system for influenza A viral RNA transcription/replication inhibitors.	Sci. Rep.	3	1106	2013

Watanabe, T., Kiso, M., Fukuyama, S., Nakajima, N., Imai, M., Yamada, S., Murakami, S., Yamayoshi, S., Iwatsuki-Horimoto, K., Sakoda, Y., Takashita, E., McBride, R., Noda, T., Hatta, M., Imai, H., Zhao, D., Kishida, N., Shirakura, M., deVries, R.P., Shichinohe, S., Okamatsu, M., Kawakami, E., Ishikawa, I., Watanabe, S., Ito, M., Sakai-Tagawa, Y., Sugita, Y., Uraki, R., Yamaji, R., Einfeld, A., Zhong, G., Fan, S., Ping, J., Maher, E.A., Hanson, A., Uchida, Y., Saito, T., Ozawa, M., Neumann, G., Kida, H., Odagiri, T., Paulson, J.C., Hasegawa, H., Tashiro, M., Kawaoka, Y.	Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans	Nature	26:501(7468)	551-555	2013
Shirakura, M., Kawaguchi, A., Tashiro, M., Nobusawa, E.	The composition of hemagglutinin and neuraminidase affects antigen yield of A(H1N1)pdm09 candidate vaccine viruses.	Jpn. J. Infect. Dis.	66	65-68	2013
Kobayashi H, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Uraki R, Ichiko Y, Takimoto T, Kawaoka Y.	A replication-incompetent influenza virus bearing the HN glycoprotein of human parainfluenza virus as a bivalent vaccine.	Vaccine	31	6239-6246	2013
Sugita Y, Sagara H, Noda T, Kawaoka Y.	The configuration of viral ribonucleoprotein complexes within the influenza A virion.	J Virol	87	12879-12884	2013
Goto H, Muramoto Y, Noda T, Kawaoka Y.	The genome packaging signal of the influenza A virus genome comprises a genome incorporation signal and a genome bundling signal.	J Virol	87	11316-11322	2013
Uraki R, Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Fukuyama S, Takashita E, Ozawa M, Kawaoka Y.	A novel bivalent vaccine based on a PB2-knockout influenza virus protects mice from pandemic H1N1 and highly pathogenic H5N1 virus challenges.	J Virol	87	7874-7881	2013
Kiso M, Takano R, Sakabe S, Katsura H, Shinya K, Uraki R, Watanabe S, Saito H, Toba M, Kohda N, Kawaoka Y.	Protective efficacy of orally administered, heat-killed Lactobacillus pentosus b240 against influenza A virus.	Sci Rep	3	1563	2013
Muramoto Y, Noda T, Kawakami E, Akkina R, Kawaoka Y.	Identification of novel influenza A virus proteins translated from PA mRNA.	J Virol	87	2455-2462	2013

Khandaker I, Suzuki A, Kamigaki T, Tohma K, Odagiri T, Okada T, Ohno A, Otani K, Sawayama R, Kawamura K, Okamoto M, Oshitani H.	Molecular evolution of the hemagglutinin and neuraminidase genes of pandemic (H1N1) 2009 influenza viruses in Sendai, Japan, during 2009–2011.	Virus Genes.	Epub ahead of print			2013
Members of the Western Pacific Region Global Influenza Surveillance Response System, Dwyer D, Barr I, Hurt A, Kelso A, Reading P, Sullivan S, Buchy P, Yu H, Zheng J, Shu Y, Wang D, Lam, Aguon A, Oliva RQ, Odagiri T, Tashiro M, Verasahib K, Yusof MA, Nymadawa P, Alexander B, Gourinat AC, Grangeon JP, Jennings L, Huang S, Horwood P, Lucero M, Roque V Jr, Lee Suy L, Cardon P, Tandoc A 3rd, Olveda RM, Kang C, Young-Joon P, Cutter J, Lin R, Low C, Mai le TQ, Balish A, Kile J, Mei S, Mcfarland J, Moen A, Olsen S, Samaan G, Xiyan X, Chea N, Diorditsa S, Feldon K, Fox K, Jamsran M, Konings F, Lewis HC, McPherson M, Nilles E, Olowokure B, Partridge J.	Seasonal influenza vaccine policies, recommendations and use in the World Health Organization's Western Pacific Region.	Western Pac Surveill Response J	4	51–59		2013
長谷川 秀樹, 田村 慎一	インフルエンザに立ち向かうインフルエンザワクチンの現状と展望	Mebio	30巻12号	68–73		2013
長谷川 秀樹	今、注目のワクチン 次世代ワクチンとしての経鼻インフルエンザワクチン	ファルマシア	49巻3号	196–200		2013
長谷川 秀樹	ワクチン対策の現状と課題 インフルエンザワクチン	化学療法の領域	29巻2号	230–234		2013
Miyazaki M, Nishihara H, Hasegawa H, Tashiro M, Wang L, Kimura T, Tanino M, Tsuda M, Tanaka S.	NS1-binding protein abrogates the elevation of cell viability by the influenza A virus NS1 protein in association with CRKL.	Biochem Biophys Res Commun	441(4)	953–957		2013
Ainai A, Tamura S, Suzuki T, van Riet E, Ito R, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Hasegawa H.	Intranasal vaccination with an inactivated whole influenza virus vaccine induces strong antibody responses in serum and nasal mucus of healthy adults.	Hum Vaccin. Immunother.	9(9)	1962–1970		2013

Okada S, Hasegawa S, Hasegawa H, Ainai A, Atsuta R, Ikemoto K, Sasaki K, Toda S, Shirabe K, Takahara M, Harada S, Morishima T, Ichiyama T.	Analysis of bronchoalveolar lavage fluid in a mouse model of bronchial asthma and H1N1 2009 infection.	Cytokine	63(2)	194-200	2013
Kuribayashi S, Sakoda Y, Kawasaki T, Tanaka T, Yamamoto N, Okamatsu M, Isoda N, Tsuda Y, Sunden Y, Umemura T, Nakajima N, Hasegawa H, Kida H.	Excessive cytokine response to rapid proliferation of highly pathogenic avian influenza viruses leads to fatal systemic capillary leakage in chickens.	PLoS One	8(7)	E68375	2013
Dan K, Akiyoshi H, Munakata K, Hasegawa H, Watanabe K.	A Kampo (traditional Japanese herbal) medicine, Hochuekkito, pretreatment in mice prevented influenza virus replication accompanied with GM-CSF expression and increase in several defensin mRNA levels.	Pharmacology	91(5-6)	314-321	2013
Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, Kobayashi S, Yamaguchi H, Orba Y, Kawaguchi A, Hasegawa H, Kajino K, Ninomiya T, Ijiri K, Sawa H.	Gold nanoparticles as a vaccine platform: influence of size and shape on immunological responses in vitro and in vivo.	ACS Nano	7(5)	3926-3938	2013
Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach HN, Katano H, Diep PH, Kumasaka T, Thuy NT, Hasegawa H, San LT, Kawachi S, Liem NT, Suzuki K, Sata T.	Pathological study of archival lung tissues from five fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam.	Mod Pathol.	26(3)	357-369	2013
Takashita, E., Ejima, M., Fujisaki, S., Kishida, N., Xu, H., Imai, M., Yamashita, K., Kim, N., Sato, A., Sugawara, H., Itoh, R., Doi, T., Nakauchi, M., Takayama, I., Kageyama, T., Tashiro, M., Odagiri, T., the Influenza Virus Surveillance Group of Japan	Characterization of neuraminidase inhibitor-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated in four seasons during pandemic and post-pandemic periods in Japan	Influenza and Other Respiratory Viruses	7(6)	1390-1399	2013
Kishida N, Imai M, Xu H, Taya K, Fujisaki S, Takashita E, Tashiro M and Odagiri T	Seroprevalence of a novel influenza A (H3N2) variant virus in the Japanese population	Japanese journal of infectious diseases	66	549-551	2013
Miho Kobayashi, Ikuyo Takayama, Tsutomu Kageyama, Hiroyuki Tsukagoshi, Mika Saitoh, Taisei Ishioka, Yoko Yokota, Hirokazu Kimura, Masato Tashiro, Kunihisa Kozawa	Novel Reassortant Influenza A(H1N2) Virus Derived from A(H1N1)pdm09 Virus Isolated from Swine, Japan, 2012	Emerg Infect Dis.	19(12)	1972-1974	2013

堀本泰介	2013年伴侶動物・野生動物のインフルエンザ	野生動物学	コラム		2013
Kobayashi, M., Takayama, I., Kageyama, T., Tsukagoshi, H., Saitoh, M., Ishioka, T., Yokota, Y., Kimura, H., Tashiro, M., Kozawa, M.	Novel reassortant influenza A (H1N2) virus derived from A(H1N1)pdm09 virus isolated from swine, Japan, 2012.	Emerg. Infect. Dis.	19	1972-1974	2013
Kushibuchi, I., Kobayashi, M., Kusaka, T., Tsukagoshi, H., Ryo, A., Yoshida, A., Ishii, H., Saraya, T., Kurai, D., Yamamoto, N., Kanou, K., Saitoh, M., Noda, M., Kuroda, M., Morita, Y., Kozawa, K., Oishi, K., Tashiro, M., Kimura, H.	Molecular evolution of attachment glycoprotein (G) gene in human respiratory syncytial virus detected in Japan 2008-2011.	Infect. Genetics Evol	18	168-173	2013
McKimm-Breschkin, J.L., Williams, J., Barrett, S., Jachno, K., McDonald, M., Mohr, P., Saiito, T., Tashiro, M.	Reduced susceptibility to all neuraminidase inhibitors of influenza H1N1 viruses with haemagglutinin mutations and mutations in non-conserved residues of the neuraminidase	J. Antimicrobial Chemotherapy.	68(10)	2210-2221	2013
Fujisaki, S., Imai, M., Takashita, E., Taniwaki, T., Xu, H., Kishida, N., Yokoyama, M., Sato, H., Tashiro, M., Odagiri, T.	Mutations at the monomer-monomer interface far from the active site of influenza B virus neuraminidase cause reduced susceptibilities to neuraminidase-inhibitor drugs	J. Infect. Chemother	19(5)	891-895	2013
Kuroda M., Niwa, S., Sekizuka, T., Tsukagoshi, H., Yokoyama, M., Ryo, A., Sato, H., Kiyota, N., Noda, M., Kozawa, K., Shirabe, K., Kusaka, T., Shimojo, N., Hasegawa, S., Sugai, K., Tashiro, M., Oishi, M., Ishii, H., Kimura, H.,	Molecular evolution of the VP1 and VP3 genes in human rhinovirus species C	J. Virol.	submitted		2013
Kageyama, T., Nakauchi, M., Takayama, I., Takahashi, H., Tashiro, M.	Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid diagnosis of avian influenza A (H7N9) virus infection.	J. Virol. Methods	submitted		2013
Hamamoto, I., Harazaki, K., Inase, N., Takaku, H., Tashiro, M., Yamamoto, N.	Cyclosporin A inhibits propagation of influenza virus by interfering with a late event in the virus life cycle.	Jpn. J. Infect. Dis.	66(4)	276-283	2013

Sriwilajaroen, N., Magesh, S., Ando, H., Ishida, H., Sakai, M., Ishitsubo, E., Hori, T., Moriya, S., Ishikawa, T., Kuwata, K., Odagiri, T., Tashiro, M., Hiramatsu, H., Tsukamoto, K., Miyagi, T., Tokiwa, H., Kiso, M., Suzuki, Y.	A novel potent and highly specific inhibitor against influenza viral N1–N9 neuraminidases.	Nature Chem. Biol.	submitted		2013
Hamamoto, I., Takaku, H., Tashiro, M., Yamamoto, N.	High yield production of influenza virus in Madin Darby canine kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7-like gene.	PLoS ONE	10	1371	2013
Fouchier, R.A.M., Garcia-Sastre, A., Kawaoka, Y., Barclay, W.S., Bouvier, N.M., Brown, I.H., Gapua, I., Chen, H., Compans, R.W., Couch, R.B., Cox.N.J., Doherty, P.C., Donis, R.O., Feldmann, H., Guan, Y., Katz, J., Kiselev, O., Klenk, H.-D., Kobinger, G., Liu, J., Liu, X., Lowen, A., Mittenleiter, T.C., Osterhaus, A.D.M.E., Palese, P., Peiris, J.S.M., Perez, D.R., Richit, J.A., Schultz-Cherry, S., Steel, J.Subbarao, K., Swayne, D.E., Takimono, T., Tashiro, M., Taubenberger, J.K., Thomas, P.G., Tripp, R.A., Tumpey, T.M., Webby, R.J., Webster, R.G.	Avian flu transmission research resumes.	Science	339(6119)	520–521	2013
Horimoto T, Gen F, Murakami S, Iwatsuki-Horimoto K, Kato K, Akashi H, Hisasue M, Sakaguchi M, Kawaoka Y, Maeda K	Serological evidence of infection of dogs with human influenza viruses in Japan.	Veterinary Records	in press		2014
E.Takashita, M.Ejima, R.Itoh, M.Miura, A.Ohnishi, H.Nishimura, T.Odagiri and M.Tashiro.	A community cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November to December 2013.	Euro surveillance	19	20666	2014
Kamigaki T, Seino J, Tohma K, Nukiwa-Soma N, Otani K, Oshitani H	Investigation of an Influenza A (H3N2) outbreak in evacuation centres following the Great East Japan earthquake, 2011.	BMC Public Health	14(1)	34	2014