

インフルエンザ経鼻ワクチンの体内動態評価

分担研究者：長谷川秀樹（国立感染症研究所 感染病理部）

協力研究者：原田典弘（浜松ホトニクス株式会社 中央研究所 PET センター）

相内 章（国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター）

鈴木忠樹（国立感染症研究所 感染病理部）

齊藤慎二（国立感染症研究所 感染病理部）

研究要旨： 現行インフルエンザワクチンは皮下に注射されるため、全身性の IgG 抗体を誘導できるが、ウイルスの侵入部位である気道に粘膜免疫を誘導できない。インフルエンザウイルスの感染防御には、粘膜免疫の中でも上気道粘膜上への分泌型 IgA 抗体誘導が特に重要であることが、マウスを用いたモデル実験等で明らかにされている。この粘膜免疫を誘導するためには、インフルエンザワクチンを鼻腔領域内に噴無する経鼻インフルエンザワクチンが有効である。我々は、経鼻インフルエンザワクチンの実用化に向けた研究を行っている。しかしながら、不活化抗原を鼻粘膜に投与するワクチンは、インフルエンザワクチンに限らず未だにヒトでは実用化されておらず、その安全性については十分な評価がされていない。そこで本研究では、PET を用いて次世代ワクチンである経鼻不活化インフルエンザワクチンの体内動態を明らかにし、その安全性を評価することを目的としている。

A. 研究目的

インフルエンザの大流行を抑制するには効果的なワクチンが必要不可欠である。しかしながら、変異を繰り返し毎年のように抗原性を変化させるインフルエンザウイルスにおいては、ワクチン株と実際に流行するウイルス株の抗原性が大きく乖離することで、ワクチン効果が著しく低くなる場合がある。そのため、現行のワクチンより有効性の高いインフルエンザワクチンの開発が求められている。

有効性の高いワクチンを開発するためには、

生体内におけるインフルエンザウイルスの感染様式と感染防御に寄与する免疫を正しく理解する必要がある。インフルエンザウイルス感染の標的細胞は気道粘膜上皮細胞であり、感染防御に最も大きな役割を果たすのは気道粘膜上に多量に存在する分泌型 IgA 抗体であると考えられている。注射により皮下に接種される現行の季節性インフルエンザ HA ワクチン（エーテルおよび界面活性剤処理によりインフルエンザウイルスを破碎し、ヘマグルチンを主要抗原とするワクチン）では、ウイ

ルスに対する IgG 抗体が血液中のみに誘導され、気道粘膜上の分泌型 IgA 抗体の誘導は認められない。経鼻インフルエンザワクチンは、血液中の IgG 抗体に加えて感染の場となる上気道粘膜上に分泌型 IgA 抗体を誘導することが明らかになっている。さらにこの分泌型 IgA 抗体は、抗原性が変化したウイルスに対しても感染阻止効果が高いこと（交叉防御能）がマウスを用いた実験から明らかになっており、現行ワクチンより有効性の高いワクチンであると考えられる。

我々は、不活化全粒子インフルエンザウイルスを抗原とした経鼻インフルエンザワクチンの開発研究を行っている。近年では、健康成人ボランティアを募った臨床介入試験を実施し、経鼻不活化インフルエンザワクチンの実用化に向けて着実に研究を進めている。現在までの所、動物やヒトにおいてワクチン接種に伴う重大な副反応は見られておらず、このワクチンの安全性も高いと考えられる。しかしながら、多人数に接種されて初めて露見する副反応を事前に適切に評価することは非常に困難である。さらに、現在、ヒトで認可され使用されている経鼻噴無により接種される不活化ワクチンは存在しないことから、この投与ルートにおける安全性評価の指標も存在しない。一般に医薬品の安全性を評価する上では、製剤の体内動態を把握しておくことが非常に重要であるため、本研究では経鼻不活化ワクチンの安全性評価の基礎を築くために PET 検査用に放射性同位体で標識したワクチン製剤をマウスもしくはサルに経鼻投与し、その体内動態を科学的に明らかにすることを

目的としている。そこで本研究では、標識製剤作成のための精製条件の検討、不活化全粒子インフルエンザワクチンの¹⁸F 標識条件の検討を行った後に¹⁸F 標識を行った経鼻インフルエンザワクチンを使用して、アカゲザル及びマウスを用いたモデル実験を実施した。同時に、臨床試験に用いている添加剤カルボキシビニルポリマー（CVP）の製剤体内動態への影響も検討した。

B. 研究方法

1) 材料

不活化全粒子インフルエンザワクチンは、一般財団法人阪大微生物病研究会観音寺研究所より供与して頂いた新型インフルエンザ不活化全粒子ワクチン H5N1 (NIBRG-14 株) 3 価不活化全粒子インフルエンザワクチン (A(H1N1)株として A/California/7/09 由来のワクチン製造株 X-179A、A(H3N2)株として A/Victoria/361/11 由来の IVR-165、B 型株として B/Wisconsin/1/10 由来の BX-41A を含む) ならびに濃縮単価不活化全粒子インフルエンザワクチン A-179A を用いた。

2) Cellufine Sulfate カラムを用いたアフィニティー精製

ワクチン製剤のアフィニティー精製は FPLC クロマトグラフィーシステム AKTAprime plus を用いた。サンプルを 0.45 μm フィルターでろ過することにより清澄化を行った。500ul のサンプルを結合バッファー(0.01M リン酸バッファー pH7.4) で平衡化した Mini column Cellufine Sulfate (ver2.1) 1ml にアプライ

し、25ml の洗浄バッファー (0.01M リン酸バッファー-pH7.4、0.18M NaCl) で洗浄を行った。

その後、20ml

の溶出バッファー (0.01M リン酸バッファー-pH7.4、3M NaCl) を送液し、溶出液を 0.5ml ずつ分取した。全ての送液は 0.5ml/min で行った。

3) ゲル濾過クロマトグラフィーカラムを用いたワクチン製剤の精製

ワクチン製剤のゲル濾過クロマトグラフィー精製は FPLC クロマトグラフィーシステム AKTAprime plus により行った。サンプルを 0.45 μ m フィルターでろ過することにより清澄化を行った。500 μ l のサンプルを溶出バッファー (0.01M リン酸バッファー-pH7.4) で平衡化したゲルろ過クロマトグラフィーカラム (Superose 12 10/300 GL, GE) にアプライし、さらに 36ml の溶出バッファーを送液し、溶出液を 0.5ml ずつ分取した。全ての送液は 0.5ml/min で行った。

4) SDS-PAGE

クロマトグラフィー分画後のサンプルを 2-メルカプトエタノールを加えたサンプルバッファーと混ぜ、95 °C、5 分のインキュベーションを行う事で変性させたものをサンプルとし、12%ゲルで SDS-PAGE を行った。

5) 電子顕微鏡観察

分画後のサンプルの固定は 4%グルタルアルデヒド、2%リンタングステン酸によるネガティブ染色を実施した。観察は、透過型電

子顕微鏡 JEM-1400 (日本電子) で行い、撮影は付属の CCD カメラを用いた。

6) HA 含量の定量

分画前後のサンプルに含まれる A(H1N1)、A(H3N2)および B 型ウイルスの HA 含量を一元放射免疫拡散試験 (Single Radial Immunodiffusion、SRD 試験) にて測定した。SRD 試験は、現行季節性インフルエンザ HA ワクチンに関する国家検定の手順に従い実施した。SRD 試験直前に、各サンプルに関して界面活性剤 Zwittergent 処理を実施し、希釈を行った (希釈倍率 ; 1.0、0.75、0.5 および 0.25 倍)。各ウイルスに対する参照抗血清を含む 1% アガロースゲルに直径 4mm の穴をあけ、界面活性剤処理済みのサンプルを添加した。サンプルがゲルに吸収されたのを確認し、ゲルを洗浄後、20 で 18 時間インキュベートした。ゲルを乾燥させ Coomassie Brilliant Blue 染色を行い、沈降輪の直径を測定した。測定した沈降輪の直径をもとに平行線定量法により、各サンプルに含まれる HA 量を算出した。なお、HA 含量既知の各ウイルス抗原を標準抗原として使用した。

7) ワクチンの 18F 標識

不活化全粒子インフルエンザワクチンを 18F 標識するための、[18F]SFB 標識体の合成を行った。その後、不活化ワクチンとのカップリング反応を行い、18F 標識を行った。標識された不活化ワクチンは、上述の則り、ゲルろ過クロマトグラフィーカラム (Superose 12 10/300 GL, GE) にアプライし、未反応の

[18F]SFB 標識体を除去した標識ワクチンを void volume に回収した。

8) PET 及び カウンターを用いたマウスにおける 18F 標識ワクチンの動態解析

上述 2) の手順で回収された 18F 標識不活化全粒子インフルエンザワクチンを CVP 添加・非添加の条件にてマウス鼻腔領域内に滴加し (片鼻 2.5 μ L、両鼻で計 5 μ L) 接種直後より小型動物用 PET によりその動態を継時的に測定し解析を行った。また、接種したマウスの解剖を継時的に行い、摘出した各臓器の放射線量を カウンターにより測定した。マウスは 6 週齢の雌 BALB/c マウスを用いた。動物への処置は国立感染症研究所および浜松ホトニクス株式会社の定める動物実験実施規定に則り、苦痛を与えないように考慮した。

9) PET を用いたアカゲザルにおける 18F 標識ワクチンの動態解析

上述の手順で回収された 18F 標識不活化全粒子インフルエンザワクチンを CVP 添加・非添加の条件にてアカゲザルの鼻腔領域内に噴霧し (片鼻 250 μ L、両鼻で計 500 μ L) 接種直後より PET を用いてその動態を解析した。アカゲザルは浜松ホトニクス株式会社により飼育されているサルを用いた。動物への処置は国立感染症研究所および浜松ホトニクス株式会社の定める動物実験実施規定に則り、苦痛を与えないように考慮した。

C. 研究結果

1) ワクチン製剤のアフィニティー精製

Cellufine sulfate を用いたインフルエンザウイルスの精製については過去に報告があり、その方法に準じて精製を行った。しかしながら、今回用いた不活化全粒子インフルエンザワクチンは、同条件ではカラムへ吸着せず、精製を行うことが出来なかった (図 1)。

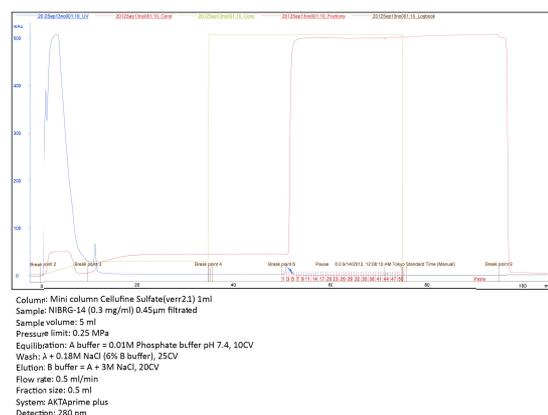


図 1. Cellufine sulfate を用いたインフルエンザウイルスの精製

2) ゲル濾過クロマトグラフィーによるワクチン製剤の精製

全粒子不活化ワクチンは、ウイルス粒子の形態が保たれたまま不活化されており、その粒径は 100nm を超え、粒径分布も広い。このような巨大な分子を高速で分画できるゲル濾過クロマトグラフィーカラムは存在しないことから、小分子である放射性同位体を排除することを目的として Superose12 カラムを用いたゲル濾過クロマトグラフィーによる精製を行った。クロマトグラムには、ワクチン製剤と考えられるピークが Void volume に見られた (図 2)。ピーク分画のサンプルを SDS-PAGE により解析したところ、input サンプルと同様のバンドが確認された (図 3)。さらにピーク分画の電子顕微鏡観察では、精製前のサン

ルと同様に明瞭なオルソミクソウイルス粒子が観察された（図 4）。以上の結果より、ワクチン製剤はゲル濾過クロマトグラフィーにより Void volume に分画され、数百 KDa 以下の分子と明瞭に分離できることが明らかになった。

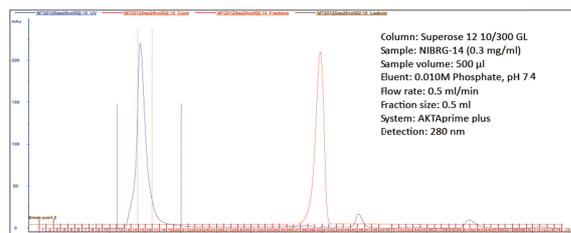


図 2. ゲル濾過クロマトグラフィーによるワクチン製剤の精製

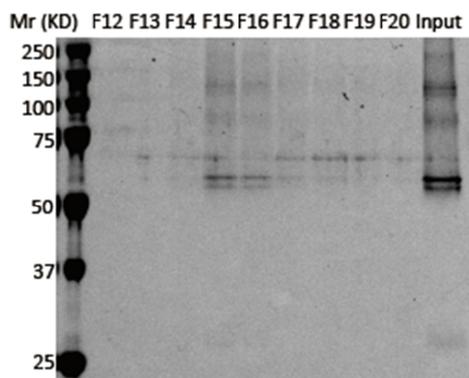


図 3. ゲル濾過分画の SDS-PAGE

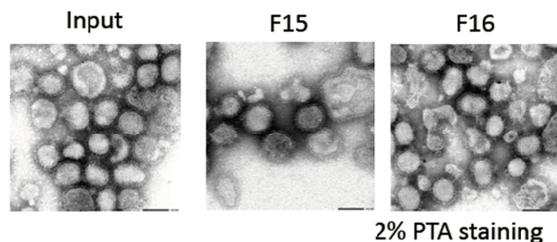


図 4. ゲル濾過分画の電子顕微鏡解析

3) ワクチンの 18F 標識

上述の精製方法を用いて PET に用いる全粒子不活化インフルエンザワクチンに対する標識の検討をおこなった。最初に、現行の季節

性インフルエンザワクチンと同じく 3 種類のインフルエンザワクチン（A(H1N1), A(H3N2) および B 型）を含む 3 価全粒子不活化ワクチンに関して、Superose 12 10/300 GL を用いたゲルろ過クロマトグラフィーを実施し、void volume に溶出されるサンプルに関して、SRD 試験を実施し A(H1N1)、A(H3N2) および B 型の HA 含量を測定した。その結果、各ウイルス HA 量として 90 µg をゲルろ過カラムに添加した時、溶出される void volume ピークフラクション（No. 15 と 16 の計 1mL）に関して、A(H1N1) および A(H3N2) の HA 量はそれぞれ 39.6 µg と 59.6 µg となり、44～63%の回収率で分画できることが明らかになった。しかしながら、B 型ウイルスに関しては、かなりの損失が見られた。B 型ウイルスに関しては十分な HA 量を回収できないものの、A(H1N1) および A(H3N2) に関しては、現行インフルエンザワクチンの接種量（15 µg HA/500 µL/dose）と同等の HA 量を回収できることが明らかになった。そこで、この 3 価不活化全粒子ワクチンに関して 18F 標識を試みたが、標識されたワクチンを得ることが出来たものの PET を行うには不十分な回収率となることが判明した。

ゲルろ過操作により回収できる HA 量がウイルスにより異なってしまうこと、また濃度が薄く PET 実施には不十分であることが判明したため、A(H1N1) 単身不活化全粒子ワクチンでの PET 実施に切換え、濃縮することで 1.5 mg HA/mL とした不活化全粒子ワクチンの 18F 標識を試みた。その結果、放射線量ならびに回収タンパク量として、PET 実施に十分な 18F 標識 X-179A ワクチンを回収できることが明らかに

なった（想定値として約 300 MBq/0.3 mg HA/1 mL）。

4) PET 及び カウンターを用いたマウスにおける 18F 標識ワクチンの動態解析

マウスにおいて[18F]標識全粒子不活化インフルエンザワクチンの動態解析及び CVP の添加による影響の評価を実施した。PET を用いた動態解析はワクチン接種後 6 時間までデータを採取した。ワクチンは接種 10 分後において鼻腔、咽頭及び胃で、1 時間以降 6 時間まで、鼻腔、腸及び膀胱で検出された。鼻腔及び腸におけるシグナルは時間と共に減衰した。測定時間内においては肺で検出されることはなかった。また、CVP 非添加と比較して CVP 添加ワクチンは 6 時間後において鼻腔で高いシグナルが確認された。カウンターを用いた動態解析（図 5）では、鼻腔、NALT、尿において強いシグナルが検出された。鼻腔及び NALT では接種直後の 10 分をピークとし、経時的に減少した。一方、尿では接種後 3 時間まではシグナルが増加し、その後減少に転じた。嗅球及び大脑において、シグナルは確認できなかった。また、CVP 非添加ワクチンと比較して CVP 添加ワクチンは経時的なシグナル減少が遅くなった。

5) PET を用いたアカゲザルにおける 18F 標識ワクチンの動態解析

アカゲザルにおいて[18F]標識全粒子不活化インフルエンザワクチンの動態解析及び CVP の添加による影響の評価を実施した。PET を用いた動態解析は、マウスと同様にワクチン

接種後 6 時間までデータを採取した。ヒトに近縁の霊長類において、鼻腔内に存在するワクチンの経時的变化を観察できた。マウスと同様に、経時的にシグナルは減少するが、CVP の添加によりその減少は抑えられた。CVP の有無にかかわらず、鼻前庭でのシグナルは測定時間内において変化が見られなかった。

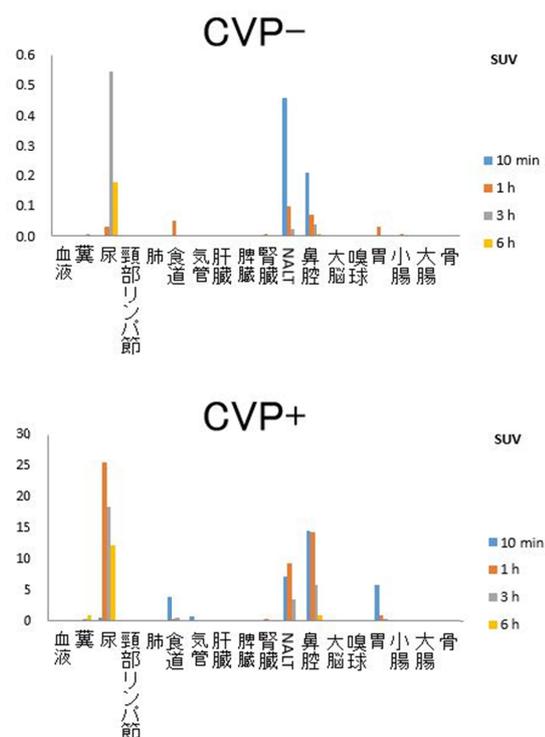


図 5. カウンターを用いたマウスにおける 18F 標識ワクチンの動態解析

D. 考察

経鼻インフルエンザワクチンは鼻腔内にワクチンを接種するワクチンであるため、嗅球ならびに嗅神経をへて脳への影響を危惧する意見がある。本研究課題では、経鼻インフルエンザワクチン接種に伴う安全性を検証することを目標とし、PET を用いて鼻腔領域内に噴霧したワクチンの動態を明らかにすることを

目的とした。研究期間の 3 年間で不活化全粒子ワクチンの 18F 標識および精製に関する検討と、マウス、サルを用いた試験を実施した。

試験の結果、マウスに経鼻接種された標識ワクチンは、接種 10 分後において鼻腔、咽頭及び胃のみで検出され、1 時間以降では、腸及び膀胱でも確認された。ワクチンは生体内において、まず主要な量が鼻腔内に貯留し、経時的に飲み込まれ消化器系に分布し、代謝され排泄系に移行するものと考えられる。また、測定時間内において肺でワクチンが検出されることはなかったため、上気道に接種する経鼻ワクチンにおいて懸念される呼吸器系への蓄積の可能性が非常に低いことを示唆する。

カウンターを用いた動態解析においても、同様に肺においてワクチンの蓄積は認められなかった。そして、カウンターを用いた動態解析において、嗅球及び大脳でのワクチンの検出は出来なかった。経鼻ワクチンにおいて、脳を含む中枢神経系への影響が最も危惧されているが、ワクチンが中枢神経系へ影響を及ぼす可能性は低いことを裏付ける科学的知見と考えられる。以上の結果を纏めると、

カウンターを用いた従来の動態解析法と比較して、PET を用いた動態解析法は同様の結果が得られた。故に、本方法は安全性を評価する上で従来法において不可能であったリアルタイムの変化という時間的情報を得ることができ、非常に有用であると考えられる。

アカゲザルに経鼻接種された標識ワクチンは、主要な免疫応答の場である鼻腔に注目し解析された。接種後鼻腔に存在するワクチンは、マウスと同様に経時的にシグナルは減少

した。CVP をワクチンに添加した場合、鼻腔内での貯留性に改善が認められた。同様の結果が、マウスにおいても得られた。近年、鼻腔粘膜上に接種したワクチンの流動性を抑え保持時間を長くすることで、ワクチン効果が増強することが示されている。これらをまとめると既に市販薬において使用されている CVP は、経鼻ワクチンにおいてもワクチンの保持時間を長くすることでワクチン効果の増強に寄与することが期待できる。鼻前庭でのシグナルは測定時間内において変化が見られなかった。これは鼻前庭の上皮細胞は繊毛運動を行わないために起こったものと考えられる。

以上の結果より、経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンは、経鼻投与後に脳内に移行することはなく、数時間で体内に吸収され代謝されていると考えられた。

E. 結論

次世代ワクチンである経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの安全性を評価することを目標とし、PET を用いてその動態を明らかにするための 18F 標識の検討を行った。マウス及びサルを用いた試験により経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンは、経鼻投与後に脳内に移行することはなく、数時間で体内に吸収され代謝されていると考えられ、皮下接種では起こらない経鼻接種特異的な安全性に関わる問題が起こる可能性は低いと考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sasaki I, Hoshino K, Sugiyama T, Yamazaki C, Yano T, Iizuka A, Hemmi H, Tanaka T, Saito M, Sugiyama M, Fukuda Y, Ohta T, Sato K, Aina A, Suzuki T, Hasegawa H, Toyama-Sorimachi N, Kohara H, Nagasawa T, Kaisho T. Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. *Blood*. 2012 Dec 6;120(24):4733-43. Epub 2012 Oct 11.
- 2) van Riet E, Aina A, Suzuki T, Hasegawa H. Mucosal IgA responses in influenza virus infections; thoughts for vaccine design. *Vaccine*. 2012 Aug 31;30(40):5893-900. Epub 2012 Jul 24.
- 3) Senchi K, Matsunaga S, Hasegawa H, Kimura H, Ryo A. Development of oligomannose-coated liposome-based nasal vaccine against human parainfluenzavirus type 3. *Front Microbiol*. 2013 Nov 26;4:346.
- 4) Aina 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*. 2013 Sep;9(9):1962-70.
- 5) Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, Kobayashi S, Yamaguchi H, Orba Y, Kawaguchi A, Hasegawa H, Kajino K, Ninomiya T, Ijiro K, Sawa H. Gold nanoparticles as a vaccine platform: influence of size and shape on immunological responses in vitro and in vivo. *ACS Nano*. 2013 May 28;7(5):3926-38.
- 6) Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Aina A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T, Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. The host protease TMPRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses. *J Virol*. 2014 May;88(10):5608-16. Epub 2014 Mar 5.
- 7) van Riet E, Aina A, Suzuki T, Kersten G, Hasegawa H. Combatting infectious diseases; nanotechnology as a platform for rational vaccine design. *Adv Drug Deliv Rev*. 2014 Jul 30;74:28-34. Epub 2014 May 23.
- 8) Hasegawa H, van Riet E, Kida H. Mucosal immunization and adjuvants. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;386:371-80.

2. 学会発表

- 1) 長谷川 秀樹 次世代ワクチンとしての経鼻インフルエンザワクチン 第60回日

- 本ウイルス学会学術集会 大阪
2012.11
- 2) 山本 典生、浅沼 秀樹、佐藤 佳代子、中内 美奈、高橋 仁、許斐 奈美、相内 章、長谷川 秀樹、田代 真人 細胞培養もしくは鶏卵で製造されたインフルエンザワクチンの品質管理試験および免疫応答への影響 第60回日本ウイルス学会学術集会 大阪 2012.11
 - 3) 川口 晶、鈴木 忠樹、相内 章、佐藤 由子、信澤 枝里、田代 真人、長谷川 秀樹 喘息発作誘発モデルを用いたインフルエンザウイルス感染症の病態解析 第60回日本ウイルス学会学術集会 大阪 2012.11
 - 4) 池田 千将、伊藤 良、相内 章、鈴木 忠樹、田村 慎一、田代 真人、浅沼 秀樹、長谷川 秀樹 基礎免疫を有する個体に対する経鼻投与型インフルエンザワクチン効果 第60回日本ウイルス学会学術集会 大阪 2012.11
 - 5) 泉地 恭輔、相内 章、鈴木 忠樹、浅沼 秀樹、長谷川 秀樹 経鼻投与型インフルエンザワクチンによるマウス母子免疫の解析 第60回日本ウイルス学会学術集会 大阪 2012.11
 - 6) 鈴木 忠樹、川口 晶、相内 章、田村 慎一、伊藤 良、小田切 孝人、田代 真人、長谷川 秀樹 インフルエンザワクチン経鼻接種により鼻腔内に誘導される分泌型IgA抗体の性状解析 第16回日本ワクチン学会学術総会 横浜 2012.11
 - 7) 相内 章、池田 千将、伊藤 良、鈴木 忠樹、泉地 恭輔、田村 慎一、田代 真人、浅沼 秀樹、長谷川 秀樹 感染あるいはワクチン接種歴が経鼻投与型インフルエンザワクチンにより誘導される抗体応答に対して与える影響 第16回日本ワクチン学会学術総会 横浜 2012.11
 - 8) Elly van Riet, Ainai A, Ito R, Senchi K, Suzuki T, Tamura S-I, Tashiro M, Hasegawa H Characteristics of IgA versus IgG human monoclonal antibodies cloned from human plasma cells induced upon intranasal H5N1 vaccination. 第16回日本ワクチン学会学術総会 横浜 2012.11
 - 9) Hasegawa H, Ainai A, Suzuki T, Tamura S-I, Tashiro M, Kurata T Analysis of protective immune responses after intranasal administration of an inactivated whole-virion influenza vaccine in human. 第16回日本ワクチン学会学術総会 横浜 2012.11
 - 10) 浅沼 秀樹、相内 章、佐藤 佳代子、許斐 奈美、岸田 典子、長谷川 秀樹、山本 典生、田代 真人 野外株より細胞培養インフルエンザワクチンの種候補株を選定する基準の検討 第16回日本ワクチン学会学術総会 横浜 2012.11
 - 11) 山崎 達也、二宮 大輔、長島 麻里亜、荒井 由佳、手嶋 保智、長谷川 秀樹、相内 章、藤本 陽、千葉 丈 インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた受動免疫法の応用研究～長期的なウイルス防御効果と免疫不全マウスへのウイルス防御

- 効果の検討～第16回日本ワクチン学会学術総会 横浜 2012.11
- 12) 岡田 清吾、長谷川 俊史、長谷川 秀樹、相内 章、池本 健三、佐々木 功典、戸田 昌一、調 恒明、市山 高志 インフルエンザ A/H1N1 2009 感染による気管支喘息モデルマウスの気管支肺胞洗浄液解析 日本小児科学会学術集会 広島 2013.4
 - 13) 長谷川 秀樹 ワクチン研究の最前線 次世代ワクチンとしての経鼻インフルエンザワクチンの開発 日本薬剤学会 第28年会 名古屋 2013.5
 - 14) 長谷川 秀樹 良く効くインフルエンザワクチンを目指して. 第54回日本臨床ウイルス学会 倉敷 2013. 6
 - 15) 長谷川 俊史、岡田 清吾、脇口 宏之、市山 高志、長谷川 秀樹、相内 章、調 恒明、戸田 昌一、熱田 了 喘息モデルマウスを用いたインフルエンザ感染による気管支喘息発作重症化の病態解析 新型と季節性インフルエンザの比較 第45回日本小児感染症学会総会・学術集会 札幌 2013.10.
 - 16) 脇口 宏之、岡田 清吾、長谷川 秀樹、相内 章、戸田 昌一、調 恒明、長谷川 俊史 気管支喘息(病態)・免疫不全喘息モデルマウスを用いた新型インフルエンザ感染における気管支肺胞洗浄液中ケモカインの検討 第45回日本小児感染症学会総会・学術集会 札幌 2013.10
 - 17) 中島 典子、佐藤 由子、片野 晴隆、佐多 徹太郎、長谷川 秀樹 重症インフルエンザウイルス肺炎におけるサイトカイン・ケモカインの発現 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013.11
 - 18) 泉地 恭輔、相内 章、鈴木 忠樹、浅沼 秀樹、梁 明秀、長谷川 秀樹 母子免疫によるインフルエンザウイルス感染防御効果の解析 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013.11
 - 19) 池田 千将、伊藤 良、相内 章、鈴木 忠樹、田村 慎一、荒尾 雄二郎、田代 真人、浅沼 秀樹、長谷川 秀樹 経鼻インフルエンザワクチンで誘導される抗体応答に基礎免疫が与える影響 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013.11
 - 20) 相内 章、浅沼 秀樹、鈴木 忠樹、原田 勇一、田村 慎一、田代 真人、長谷川 秀樹 経鼻インフルエンザワクチンにおけるワクチンの組み合わせが抗体応答に与える影響 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013.11
 - 21) 川口 晶、鈴木 忠樹、相内 章、佐藤 由子、永田 典代、田代 真人、長谷川 秀樹 Nc/Nga マウスを用いた喘息発作によるインフルエンザ感染症重症化モデルの炸裂 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013.11
 - 22) Hideki Hasegawa, Akira Ainai, Tadaki Suzuki, Elly van Riet, Shi-ichi Tamura, Kazuyuki, Ikeda, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Takeshi Kurata. Antibody responses in serum and nasal mucus induced by the intranasal vaccination with a whole-virion

- inactivated vaccine of A(H5N1)virus in healthy naïve human adults. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology. Keystone, Colorado USA, January 2014.
- 23) Kazuyuki Ikeda, Ryo Ito, Akira Ainai, Tadaki Suzuki, Shin-ichi Tamura, Yujiro Arao, Masato Tashiro, Hideki Asanuma, Hideki Hasegawa. Antibody responses induced by intranasal vaccination of a whole inactivated influenza virus in mice previously infected or vaccinated. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology. Keystone, Colorado USA, January 2014.
- 24) Tadaki Suzuki, Akira Kawaguchi, Akira Ainai, Shin-ichi Tamura, Ryo Ito, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa. Impact of the quaternary structure of human Secretory-IgA on neutralization potency to Influenza A virus in upper respiratory tract. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology. Keystone, Colorado USA, January 2014.
- 25) Hideki Hasegawa Pathology of influenza virus infection and the role of secretory-IgA antibodies in influenza virus infection. 第62回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014.11
- 26) Tadaki Suzuki, Hideki Hasegawa Pathology and pathogenesis of emerging and re-emerging viral infections. 第62回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014.11
- 27) 齊藤 慎二、Elly van Riet、相内 章、鈴木 忠樹、池田 千将、伊藤 良、泉地 恭輔、高橋 宜聖、浅沼 秀樹、小田切 孝人、田代 真人、田村 慎一、竹山 春子、長谷川 秀樹 高病原性鳥インフルエンザA(H5N1)ウイルスの経鼻不活化全粒子ワクチンにより誘導されたヒトモノクローナル抗体の特性解析 第62回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014.11
- 28) 大原 有樹、鈴木 忠樹、中野 哲郎、齊藤 慎二、相内 章、秋元 和憲、長谷川 秀樹 低毒性型合成二重鎖RNA uPICを用いた経鼻インフルエンザワクチンの開発 第62回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014.11
- 29) 長谷川 秀樹、相内 章、鈴木 忠樹、川口 晶、田村 慎一、小田切 孝人、田代 真人、倉田 毅 経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンと現行皮下接種ワクチンの抗体応答の比較 第18回日本ワクチン学会学術集会 福岡 2014.12
- 30) 齊藤 慎二、van Riet Elly、相内 章、鈴木 忠樹、大原 有樹、池田 千将、伊藤 良、泉地 恭輔、高橋 宜聖、浅沼 秀樹、小田切 孝人、田代 真人、田村 慎一、竹山 春子、長谷川 秀樹 経鼻インフルエンザワクチンにより誘導されたヒトモノクローナル抗体の特性解析 第18回日本ワクチン学会学術集会 福岡 2014.12

- 31) 相内 章、鈴木 忠樹、齊藤 慎二、田村慎一、幸 義和、小田切 孝人、田代 真人、清野 宏、長谷川 秀樹 経鼻インフルエンザワクチンの動態と抗体応答 第 18 回日本ワクチン学会学術集会 福岡 2014.12
- 32) 森山 美優、竹山 春子、長谷川 秀樹、一戸 猛志 インフルエンザウイルス特異的 CTL 誘導のための経鼻ワクチン投与方法の検討 福岡 2014.12
- 33) 鈴木 忠樹、大原 有樹、中野 哲郎、齊藤 慎二、寺内 芳彦、相内 章、長谷川 秀樹 合成二本鎖 RNA uPIC をアジュバントとする経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発 第 18 回日本ワクチン学会学術集会 福岡 2014.12
- 34) Hideki Hasegawa Induction of Neutralizing Antibodies by Inactivated Intranasal Influenza Vaccine and Characteristic of Induced Secretary-IgA Antibodies in Human. Third isirv Antiviral Group Conference, Tokyo, Japan, June 2014
- 35) Hideki Hasegawa Mucosal Influenza Vaccines. The 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID), Taipei, Taiwan January 2015

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし。