

厚生労働科学研究費補助金 地球規模保健課題解決推進のための研究事業

次世代型ワクチンの実用化に向けた検討及び 品質管理に関する基準の在り方に関する研究

平成26年度 総括分担研究報告書

研究代表者 石井 健

独立行政法人医薬基盤研究所

平成27(2015)年3月31日

目次

目次	1
I 総括研究報告書	2
次世代型ワクチンの実用化に向けた検討及び品質管理に関する基準の在り方に関する研究	3
研究代表者 石井 健 (独)医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクトリーダー	
資料1 研究班のワクチンガイドライン検討班会議について	20
II 分担研究報告書	21
1. 生物学的製剤基準の在り方に関する研究	22
研究分担者 国立感染症研究所 品質保証・管理部 加藤 篤	
研究協力者 国立感染症研究所 品質保証・管理部 落合雅樹	
国立感染症研究所 ウイルス第一部 林 昌宏	
国立感染症研究所 ウイルス第二部 石井孝司	

I 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題解決推進のための研究事業）

総括研究報告書

次世代型ワクチンの実用化に向けた検討及び品質管理に関する基準の在り方に関する研究
研究代表者 石井 健 独立行政法人医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクトリ
ーダー

【研究要旨】

本研究は、感染症に対する世界的な脅威が増加する状況を反映して新興再興感染症等に対するワクチンの承認申請数が増加している中、ワクチンを主とする生物製剤の開発及び審査行政に資するガイドライン等及び生物学的製剤基準の素案作成を目的とする。近年、アジア諸国で発生した鳥インフルエンザや SARS、2009 年にメキシコで発生し、世界的な流行（パンデミック）を引き起こしたインフルエンザ A ウイルスなどによる新型インフルエンザ、2014 年に西アフリカで発生したエボラ出血熱に加えて 2014 年には我が国で初めてのデングウイルス保有蚊の捕獲並びにヒトーヒト感染が確認され、エボラウイルス疑い症例も出現するなど、新興・再興感染症の脅威が大きな社会問題となっている。それら感染症流行に関して最も懸念されることは、多くの人が免疫を持たない型の感染症、たとえば新型インフルエンザが発生し、急速に感染拡大して世界的大流行（パンデミック）を引き起こし、甚大な健康被害をもたらすことである。この懸念に対する有効な対策はワクチンの実用化である。しかし、その有効性や安全性評価法には多くの課題があり、開発・実用化の進展は十分ではない。

平成 19 年の「ワクチン産業ビジョン」においてもその特性を踏まえた円滑な評価システム構築の重要性が提言された。また、厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会においても、海外と比べてワクチンが少ない、いわゆる「ワクチン・ギャップ」問題の解消が求められており、次世代型インフルエンザワクチンの研究開発推進が予防接種基本計画に盛り込まれるなど、今後、ワクチン開発はさらに加速するものと考えられる。

当研究班では、平成 19～22 年度（当時の代表研究者は山西弘一）に、ワクチンの開発上必要な有効性や安全性の評価法等を明確にし、ワクチンの薬事承認を円滑に進めるための「感染症予防ワクチンの非臨床及び臨床試験ガイドライン」とその「Q&A」を作成した。しかし、これは感染症予防ワクチン共通の一般的な内容で、個々のワクチンの開発にはそれぞれのガイダンスが必要であることから、平成 23 年度からは、各種感染症ワクチンに対応したガイドラインあるいはガイダンスの検討を行ってきた。

そのような中、平成 21 年 2 月 17 日改訂の新型インフルエンザ対策行動計画におけるパンデミックに対応するため検討を行い、平成 23 年度には、プロトタイプワクチン及びこれに基づくパンデミックワクチンの製造販売承認申請に必要な品質、非臨床及び臨床に関する資料について検討し、「パンデミックインフルエンザに備えたプロトタイプワクチンの開発等に関するガイドライン」を作成した。

その後、平成 24 年度には、開発が進んでいる経鼻接種インフルエンザワクチンに関して検討を行い、その検討結果を基にガイドライン案を作成した。

平成 25 年度からは医薬基盤研究所 石井健を代表として、昨年度の経鼻接種インフルエンザワクチンの検討を継続的に行うとともに、開発が強く期待されるアジュバント添加あるいは遺伝子組換

え技術を応用したワクチンのために国内外の調査を行い我が国発の国際的に適用可能なガイドライン作成のために各製剤に関する研究をおこなっている専門家との研究会議を開催し、情報収集をおこなっている。特に、WHOのアジュバント添加ワクチンのガイドライン最終版が平成25年12月に公開されたことから、今後、本研究班のアジュバント添加ワクチンのガイドライン案の検討を進める上で十分に参考になると考えられる。

また、同時に、平成25年度からは、品質、有効性と安全性確保が通常の医薬品より厳重であるワクチン、抗毒素及び血液製剤等の製法、規格等を定めている生物学的製剤基準（以下、生物基という。）についての研究会と合流した。これまでも、国立感染症研究所の加藤篤らによって主に技術の進歩に合わせて生物基の見直しが行われてきているが、本研究班では、国境を超えたグローバルな感染症の脅威に備えるため、生物学的製剤の国際化を見据え環境の変化に対応した基準の内容を引き続き検討している。ワクチン等の生物学的製剤はその有効性と安全性を確認する試験として、サル、小動物、発育鶏卵、細胞等の多くの生物を用いた試験が歴史的に用いられている。しかし、これらの方法は判定までに時間を要し、特に結果にばらつきの幅が大きいため、数を増やして統計的に処理する必要があるため、これに変わる試験管内代替法が求める声が多い。一方、試験管内の反応では既知のリスク判断の正確性は増すが未知のリスク判断が低下するという議論もあることに注意すべきである。この点を鑑みて、平成25年9月12日に、DPT-IPV、インフルエンザHAワクチン、日本脳炎ワクチンの力価決定試験の変更や海外との調和などについて昨年度検討した結果に基づいて改訂された生物学的製剤基準が告示された。平成26年度は、WHOが主体となりアジュバント添加ワクチンのガイドラインの作成が進んでいるが、このガイドラインはワクチン開発・審査上必要性が高まっており、このような状況の中で、国際的に適用可能なアジュバント添加ワクチンガイドラインの草案を作成した。このガイドラインを作成することは、海外との連携・競争においても重要な役割を担うことが期待される。

感染症のグローバル化と共にその対策手段になるワクチンもWHOのリーダーシップの下でその有効性、安全性評価にガイドラインが出されグローバル化しつつある。即ち、代替試験法を1国で作っただけでは有益性に乏しく、この方法を如何にグローバル化させるか重要である。WHOの生物学的製剤の標準化に関する専門委員会（E C B S ; Expert Committee on Biological Standardization）がまとめるガイドライン草案に盛り込む努力が必要である。

そこで、平成27年3月には中国、韓国のワクチン規制当局の関係者を日本に招いて、ワクチンに関する基礎的研究、動物試験代替試験法の検討進捗状況についての会議を行い、グローバル化への一ステップにした。

研究分担者

伊藤澄信 独立行政法人国立病院機構本部総合研究センター臨床研究統括部長・治験研究部長
加藤 篤 国立感染症研究所 放射能管理室及び検定検査品質保証室（併任）
川上浩司 京都大学大学院 医学研究科教授
國澤 純 独立行政法人医薬基盤研究所 ワクチンマテリアルプロジェクトリーダー
倉田 毅 国際医療福祉大学塩谷病院 中央検査部長
駒瀬勝啓 国立感染症研究所 ウイルス第3部第1室長
濱口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部長
宮崎義継 国立感染症研究所 真菌部長

研究協力者

俣野 哲朗 国立感染症研究所 エイズ研究センター長
森 康子 神戸大学大学院医学研究科・臨床ウイルス学分野教授
保富 康宏 独立行政法人医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター長
長谷川秀樹 国立感染症研究所感染病理部長
黒田 悦史 大阪大学免疫学フロンティア研究センター ワクチン学 准教授
青枝 大貴 BIKEN 次世代ワクチン協働研究所 ワクチン動態プロジェクト 特任准教授
小檜山康司 独立行政法人医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクト

A. 研究目的

近年、トリからヒトに感染し高い致死率を有する高病原性鳥インフルエンザウイルスの発生やメキシコを発端に世界流行を起こしたパンデミックインフルエンザウイルス A/H1N1pdm、2014 年に西アフリカで発生したエボラ出血熱、2014 年には、わが国で初めての Dengue ウイルス保有蚊の捕獲並びにヒトーヒト感染が感染が確認され、エボラウイルス疑い症例も、出現するなど、新興感染症の脅威が大きな問題となっている。その有効な対策はワクチンの実用化である。しかし、そのための有効性や安全性評価法には多くの課題があり、開発・実用化の進展は十分とは言えない。

そのような中、平成 19 年には「ワクチン産業ビジョン」においてもワクチンの特性を踏まえた円滑な評価システム構築の重要性が提言された。また、本年度、厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会においても、海外と比べてワクチンが少ない、いわゆる「ワクチン・ギャップ」問題の解消が求められており、次世代型インフルエンザワクチンの研究開発推進が予防接種基本計画に盛り込まれるなど、ワクチンの研究・開発はさらに加速するものと考えられる。

そのような状況の下、本研究班の前身である山西弘一を代表とする研究班では、ワクチンの実用化、すなわち、ワクチンの薬事承認を円滑に進めるためには、有効性、安全性評価に関するガイドラインの作成が喫緊の課題であるとして、平成 19 年から 4 年間に渡る検討から、「感染症予防ワクチンの非臨床及び臨床試験ガイドライン」とその「Q&A」を作成した。これによりワクチン開発上必要な有効性、安全性の評価法等を示したことは、その実用化に大きく寄与したが、これは感染症予防ワクチンの一般的な共通内容を明記したものであり、実際にはワクチンの特殊性ゆえ、その安全性、有効性の評価法はワクチンごとに微妙に異なること

から、個々のワクチンの開発・実用化のためにはまだ十分でなく、個々のワクチンでのガイドラインをより具体的に示すことが必要不可欠であった。

近年、特に個々の感染症により懸念されることとして、多くの人が免疫を持たない型のインフルエンザ(新型インフルエンザ)ウイルスが発生し、急速に感染拡大して世界的大流行(パンデミック)を引き起こし、甚大な健康被害をもたらすことである。この懸念から、本邦の新型インフルエンザ対策行動計画が策定され、この中で、パンデミックに対応するため、発生した新型インフルエンザウイルス株が同定されてから 6 ヶ月以内に全国民分のパンデミックワクチンを製造することが目標とされている。これを実現するためには、パンデミック発生前、あらかじめ、ワクチン製造のモデルとなるインフルエンザウイルスを用いたワクチン(プロトタイプワクチン)を開発し、ヒトにおける免疫原性及び安全性を確認しておくことで、パンデミック発生時に同等の製造方法及び品質管理方法に基づいて、パンデミックワクチンを迅速に製造・供給が可能となるよう準備しておくことが必要である。そこで、本研究班において 23 年度には、プロトタイプワクチン及びこれに基づくパンデミックワクチンの製造販売承認申請に必要な品質、非臨床及び臨床に関する資料について検討し、「パンデミックインフルエンザに備えたプロトタイプワクチンの開発等に関するガイドライン(案)」を作成した。

一方、インフルエンザの流行予防には、効果の高いワクチンが不可欠であることが言われてきた。しかし現行のインフルエンザワクチンは必ずしも感染防御には高い効果がなく、さらに新型インフルエンザにおいてはその流行株の予測が難しく、流行株予測に基づく現行の季節性インフルエンザワクチンと同じ接種方法ではその効果に限界がある。そこで次世代のワクチンとしては、より効果の高いワクチンの開

発が望まれている。インフルエンザのような上気道の粘膜から病原体が侵入し感染する急性呼吸器感染症では、粘膜からの感染によって誘導される粘膜免疫、特に分泌型の IgA 抗体の働きが重要な意味を持つ。そこで、24 年度、本研究班では、これまで本研究班で作成したガイドラインやガイダンスを基に、投与経路の異なるものとして経鼻不活化インフルエンザワクチンの製造販売承認申請に必要な品質、非臨床及び臨床に関する資料について検討し、「経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関するガイドライン(案)」の第 1 草稿を作成した。

本年度より、検討を開始したワクチンアジュバントあるいはアジュバント添加ワクチンのガイドラインは各国の審査機関としては、2005 年に欧州 EMEA からアジュバントのガイドラインが出され、2013 年 12 月には WHO が主体となりアジュバント添加ワクチンのガイドラインの最終版が発出されたが、米国 FDA では同様のガイドラインは存在しない。このような状況において、世界におけるグローバルなワクチン開発、審査の必要性を鑑み、日本においてもアジュバント添加ワクチンやアジュバントそのものに関する開発研究におけるガイドライン作成の必要性が開発側、審査行政側両方に高まってきている。日本が WHO のガイドラインにタイミングを合わせる形で独自のガイドラインを作成することは非常に意義がある。また、遺伝子組み換え技術を応用したワクチンの開発も進んでおり、アジュバントと同様、開発側、審査側両方でガイドライン作成の必要性が高まっている。これらのガイドラインは、我が国から、ワクチン開発の指針を示すこととなり、海外との連携、競争においても重要な役割を担うと期待される。

また、ワクチン、抗毒素及び血液製剤等の生物学的製剤には生物学的製剤基準が設けられており国家検定制度と相まって、一定品質以上の製品を市場供給することに貢献してきた。そ

れらの基準や制度によって、ワクチンの品質、有効性と安全性確保は、国民の健康を守るために、通常の医薬品より厳重である。

一方、感染症のグローバル化と国産にはない海外製ワクチンの国内導入機運に伴い、生物学的製剤基準がむしろ迅速な対応の妨げとなるとの見方も出ているため、基準のあり方について引き続き検討が生じた。より詳細には医薬品は既にグローバル化しているのに比べて生物学的製剤は海外で採用されている規格とわが国の規格が細部において異なり、それが生物学的製剤を輸出入の障害となって、迅速対応に遅れが生じているという見解である。そのため、海外規格と生物学的製剤基準を調和する必要性が高まっている。

これまでも、医薬品をとりまく環境の変化、とりわけ技術の進歩に合わせて、基準の追加、修正あるいは削除等、同基準の見直しが行われてきた。

本研究班では、国境を超えたグローバルな感染症(新興再興感染症等)の脅威に備えるため、ワクチンの開発や審査に資するガイドラインだけでなく、生物学的製剤の国際化を見据え環境の変化に対応した基準の内容に関する検討もおこなう。

B. 研究方法

平成 25 年度から 3 年の計画で開始された本研究班では、開発者側から最もニーズの高いアジュバント添加ワクチンや遺伝子組み換え技術を応用したワクチンの実用化のためのガイドラインに関するガイダンスの作成を行うため、まず、既承認のそれらのワクチンが種類毎に、また、具体的にどのような試験方法で実施、評価・審査されているかを、国内外の現状調査を行うことにより把握し、既出の感染症予防ワクチンの非臨床及び臨床ガイドラインに照らし、アジュバント添加ワクチンや遺伝子組み換え技術を応用したワクチンに関するガイドラ

インのガイドランス作成の研究を研究班を通じて行う。

また、試験検査法の開発や研究班会議での検討以外に、生物学的製剤の製造販売に係る業界代表と国立感染症研究所関係者の間でワーキンググループを作り、レギュラトリーサイエンスの立場から生物学的製剤基準に係る問題点とその解決方法について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト試料を用いず、研究倫理上や個人情報上の問題は生じない。

C. 研究結果、D. 考察、E. 結論

本年度は、合計2回の研究班会議を開催し、ワクチンの開発に関するガイドラインと生物学的製剤基準の在り方に関する検討を行った(資料1)。

また、日本脳炎ワクチン、狂犬病ワクチン、百日せきワクチン、B型肝炎ワクチンの特定の試験において動物代替試験法の検討をした(詳細は加藤分担研究者の報告書参照)。

F. 健康危険情報

本研究では、ガイドラインの作成に関する研究班会議に関しては通常の会議であるので、健康に関する危害はない。また、試験研究に関しては、感染症研究所で日常行われている国家検定業務関連の試験研究であり、相応の設備とプロトコルに従っているため、健康にかかわる危険はほとんど考えられない。

G. 研究発表

石井 健

- 1) Temizoz B, Kuroda E, Ohata K, Jonai N, Ozasa K, Kobiyama K, Aoshi T, Ishii KJ. "TLR9 and STING agonists synergistically induce innate and adaptive type II IFN." *Eur J Immunol*. 2014 Dec 22. doi: 10.1002/eji.201445132. [Epub ahead of print]
- 2) Natsuaki Y, Egawa G, Nakamizo S, Ono S, Hanakawa S, Okada T, Kusuba N, Otsuka A, Kitoh A, Honda T, Nakajima S, Tsuchiya S, Sugimoto Y, Ishii KJ, Tsutsui H, Yagita H, Iwakura Y, Kubo M, Ng LG, Hashimoto T, Fuentes J, Guttman-Yassky E, Miyachi Y, Kabashima K. Perivascular leukocyte clusters are essential for efficient activation of effector T cells in the skin. *Nat Immunol*. 2014 Sep 21. doi: 10.1038/ni.2992. [Epub ahead of print]
- 3) Piao Z, Akeda Y, Takeuchi D, Ishii KJ, Ubukata K, Briles DE, Tomono K, Oishi K. Protective properties of a fusion pneumococcal surface protein A (PspA) vaccine against pneumococcal challenge by five different PspA clades in mice. *Vaccine*. 2014 Sep 29;32(43):5607-13. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.07.108. Epub 2014 Aug 12. PMID:25132335[PubMed - in process]
- 4) Uraki R, Das SC, Hatta M, Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Ozawa M, Coban C, Ishii KJ, Kawaoka Y. Hemozoin as a novel adjuvant for inactivated whole virion influenza vaccine. *Vaccine*. 2014 Aug 6. pii: S0264-410X(14)01046-9. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.07.079.
- 5) Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhashi K, Ishii KJ, Hamaguchi I, Yamaguchi K. System vaccinology for the evaluation of influenza vaccine safety by multiplex gene detection of novel biomarkers in a preclinical study and batch release test. *PLoS One*. 2014 Jul 10;9(7):e101835. doi: 10.1371/journal.pone.0101835. eCollection 2014.
- 6) Hemmi M, Tachibana M, Tsuzuki S, Shoji M, Sakurai F, Kawabata K, Kobiyama K, Ishii KJ, Akira S, Mizuguchi H. The Early Activation of CD8(+) T Cells Is Dependent on Type I IFN Signaling following Intramuscular Vaccination of Adenovirus Vector. *Biomed Res Int*. 2014;2014:158128. doi: 10.1155/2014/158128. Epub 2014 May 27.
- 7) Yagi M, Bang G, Tougan T, Palacpac NM, Arisue N, Aoshi T, Matsumoto Y, Ishii KJ, Egwang TG, Druilhe P, Horii T. Protective Epitopes of the Plasmodium falciparum SERA5 Malaria Vaccine Reside in Intrinsically Unstructured N-Terminal Repetitive Sequences. *PLoS One*. 2014 Jun 2;9(6):e98460. doi: 10.1371/journal.pone.0098460. eCollection 2014.
- 8) Zhao H, Aoshi T, Kawai S, Mori Y, Konishi

- A, Ozkan M, Fujita Y, Haseda Y, Shimizu M, Kohyama M, Kobiyama K, Eto K, Nabekura J, Horii T, Ishino T, Yuda M, Hemmi H, Kaisho T, Akira S, Kinoshita M, Tohyama K, Yoshioka Y, Ishii KJ, Coban C. Olfactory plays a key role in spatiotemporal pathogenesis of cerebral malaria. *Cell Host Microbe*. 2014 May 14;15(5):551-63. doi: 10.1016/j.chom.2014.04.008.
- 9) Onishi M, Kitano M, Taniguchi K, Homma T, Kobayashi M, Sato A, Coban C, Ishii KJ. Hemozoin is a potent adjuvant for hemagglutinin split vaccine without pyrogenicity in ferrets. *Vaccine*. 2014 Apr 8. pii: S0264-410X(14)00453-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.03.072.
- 10) Imanishi T, Ishihara C, Badr Mel S, Hashimoto-Tane A, Kimura Y, Kawai T, Takeuchi O, Ishii KJ, Taniguchi S, Noda T, Hirano H, Brombacher F, Barber GN, Akira S, Saito T. Nucleic acid sensing by T cells initiates Th2 cell differentiation. *Nat Commun*. 2014 Apr 10;5:3566. doi: 10.1038/ncomms4566.
- 11) Kobiyama K, Jounai N, Aoshi T, Tozuka M, Takeshita F, Coban C, and Ishii KJ. 'Innate Immune Signaling by, and Genetic Adjuvants for DNA Vaccination' *Vaccines* 2013, 1, 278-292;
- 12) Coban C, Kobiyama K, Jounai N, Tozuka M, Ishii KJ. 'DNA vaccines: A simple DNA sensing matter?' *Hum Vaccin Immunother*. 2013 Aug 2;9(10).
- 13) Kobiyama K, Kawashima A, Jounai N, Takeshita F, Ishii KJ, Ito T, Suzuki K. 'Role of Extrachromosomal Histone H2B on Recognition of DNA Viruses and Cell Damage' *Front Genet*. 2013 May 23;4:91.
- 14) Palacpac NM, (他16名) Ishii KJ, Ueda S, Egwang TG, Horii T. 'Phase 1b Randomized Trial and Follow-Up Study in Uganda of the Blood-Stage Malaria Vaccine Candidate BK-SE36' *PLoS One*. 2013 May 28;8(5):e64073.
- 15) Halder SK, Matsunaga H, Ishii KJ, Akira S, Miyake K, Ueda H. 'Retinal cell type-specific prevention of ischemia-induced damages by LPS-TLR4 signaling through microglia' *J Neurochem*. 2013 Apr 10.
- 16) Kuroda E, Coban C, Ishii KJ. 'Particulate adjuvant and innate immunity: past achievements, present findings, and future prospects' *Int Rev Immunol*. 2013;32(2):209-20.
- 17) Tang CK, Aoshi T, Jounai N, Ito J, Ohata K, Kobiyama K, Dessailly BH, Kuroda E, Akira S, Mizuguchi K, Coban C, Ishii KJ. 'The Chemotherapeutic Agent DMXAA as a Unique IRF3-Dependent Type-2 Vaccine Adjuvant' *PLoS One*. 2013;8(3):e60038.
- 18) Jounai N, Kobiyama K, Takeshita F, Ishii KJ. 'Recognition of damage-associated molecular patterns related to nucleic acids during inflammation and vaccination' *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:168.
- 19) Tougan T, Aoshi T, Coban C, Katakai Y, Kai C, Yasutomi Y, Ishii KJ and Horii T. 'TLR9 adjuvants enhance immunogenicity and protective efficacy of the SE36/AHG malaria vaccine in nonhuman primate models' *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 2013 in press
- 20) Zhao H, Konishi A, Fujita Y, Yagi M, Ohata K, Aoshi T, Itagaki S, Sato S, Narita H, (他7名) Ishii KJ, Coban C. 'Lipocalin 2 bolsters innate and adaptive immune responses to blood-stage malaria infection by reinforcing host iron metabolism' *Cell Host Microbe*. 2012 12(5):705-16
- 21) Nakayama T, Kumagai T, Ishii KJ, Ihara T. 'Alum-adjuvanted H5N1 whole virion inactivated vaccine (WIV) induced IgG1 and IgG4 antibody responses in young children' *Vaccine*. 2012 30(52):7662-6
- 22) Tetsutani K, Ishii KJ. Adjuvants in influenza vaccines. *Vaccine*. 2012 30(52):7658-61 .
- 23) Desmet CJ, Ishii KJ. 'Nucleic acid sensing at the interface between innate and adaptive immunity in vaccination' *Nat Rev Immunol*. 2012 12(7):479-91.
- 24) Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Imoto Y, Fujieda S, Yasuda M, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K, Yoshimoto T. 'A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis' *J Allergy Clin Immunol*. 2012 130(1):184-94
- 25) Yasuda K, (他8名) Ishii KJ, Yoshimoto T, Akira S, Nakanishi K. 'Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice' *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 109(9):3451-6 .

【総説】

- 1) 小笹浩二、石井健「ワクチンによるアレルギー予防と治療」*実験医学* Vol. 31 No.17(増刊):193 (2879)-198(2884) , 2013.
- 2) 小槽山康司、石井健「TLR とレクチンの共同作用」*臨床免疫・アレルギー科* , 60

- (40):454-462, 2013.
- 3)城内直、石井健「感染と免疫」Medicina 2013, 50(3):406-411
 - 4)大西元康、石井健「ワクチン(アジュバント)デザインの最新展開」医薬ジャーナノレ2013, 49(2):699・705
 - 5)石井健「トップランナーに聞く核酸による自然免疫および獲得免疫の制御機構の研究と核酸アジュバントのワクチンへの応用研究」最新医学 013, 68(2):107-111.
 - 6)石井健「概論:宿主の生態バリア」実験医学(増刊)編集笹川千尋、柳雄介、大野博司、石井健 感染・共生・生態防御システム2012 30(20): 134-137
 - 7)石井健「概論:感染・共生・生体防御研究から生まれる新たな疾患予防、治療法のターゲット」実験医学(増刊)編集笹川千尋、柳雄介、大野博司、石井健感染・共生・生態防御システム2012 30(20): 172-175
 - 8)城内直、石井健「細胞外核酸の生物学的意義と臨床応用」実験医学(増刊)編集 笹川千尋、柳雄介、大野博司、石井健 感染・共生・生態防御システム2012 30(20): 209-216
 - 9)青枝大貴、石井健「ワクチン開発研究の展開」免疫学Update 南山堂 編集 審良静男他 2012 p190-200
 - 10)青枝大貴、石井健「自然免疫研究と次世代ワクチン」医学のあゆみ2012 243(1):122-128
 - 11)青枝大貴、石井健「ワクチンJ免疫学コア講義 南山堂 編集 熊ノ郷淳他 2012 p262-271
 - 12)小槍山康司、石井健「自然免疫メカニズムを利用するワクチンアジュバント開発.THE LUNG 2012 20 (4):54-61.
 - 13)鉄谷耕平、石井健「アジュバント開発研究の最新展開:自然免疫から審査行政。」ファームテックジャパン2012, 28(4):45・52.

(以下、研究分担者の業績)

伊藤 澄信

- 1) 伊藤澄信、森岡依子、土師京介、神林宏、原輝文：インフルエンザ(H1N1)2009 に対する AS03 アジュバント添加インフルエンザワクチン「アレパンリックス(H1N1)筋注」の使用成績調査 Pharma Medica 31(4): 135-141, 2013

著書

- 1)伊藤澄信：臨床試験における倫理と関連委員会. 消化器病診療 第2版 P474-477、医学書院 2014 東京
- 2) 伊藤澄信:沈降インフルエンザH5N1型(高病原性鳥インフルエンザ)ワクチン . JIM:

Journal of Integrated Medicine22(9): 676-677, 2012

- 3) 伊藤澄信: ワクチン治験における有害事象判定。ワクチンの市場動向と開発・製造実務集 P235-251、(株)技術情報協会 2012 東京 加藤 篤

- 1)Wood D, Elmgren L, Li S, Wilson C, Ball R, Wang J, Cichutek K, Pflleiderer M, Kato A, Cavaleri M, Southern J, Jivapaisarnpong T, Minor P, Griffiths E, and Sohn Y. A Global Regulatory Science Agenda for Vaccines. *Vaccine*, 31:163-175 (2013)
- 2)Okajima K, Iseki K, Koyano S, Kato A, Azuma H. Virological Study of a Regional Mumps Outbreak in the Northern Island of Japan—Mumps Virus Genotyping and Clinical Description. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 66(6):561-563 (2013)
- 3)Abe M, Tahara M, Sakai K, Yamaguchi H, Kanou K, Shirato K, Kawase M, Noda M, Kimura H, Matsuyama S, Fukuhara H, Mizuta K, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M. TMRSS2 is an activating protease for respiratory parainfluenza viruses. *J Virol.*, 87:11930-11935, 2013
- 4)Nagata S, Maedera T, Nagata N, Kidokoro M, Takeuchi K, Kuranaga M, Takeda M and Kato A. Comparison of the live attenuated mumps vaccine (Miyahara strain) with its preattenuated parental strain. *J Vaccines Immun.* 1: 13-21 (2013)
- 5)Oikawa N., Okumura A., Oyama S., Baba H. Shimizu T., Kato A. A 15-month old boy with reduced consciousness and convulsion. *J Clin Virol*, 53:276-279 (2012)
- 6)藤田 賢太郎、加藤 篤 第5章 ワクチン製造における品質管理の基本的考え方とポイント、ワクチン開発における最新動向、pp75-82 情報機構 2013年10月17日発行

川上 浩司

<原著論文 2012年 2014年>

- 1)Masayuki Kohno, Tomohisa Horibe, Koji Ohara, Shinji Ito, and Koji Kawakami. K8L9 and melittin, membrane-lytic peptides, enter the cancer cells via receptor endocytosis in the subcytotoxic exposure. in revision, *Chemistry and Biology*, 2014.
- 2)Kahori Seto, Junichi Shoda, Tomohisa Horibe, Eiji Warabi, Masayuki Kohno, Toru Yanagawa, Hiroki Bukawa, Yasuni Nakanuma, and Koji Kawakami. Targeting of Interleukin-4 receptor alpha by hybrid peptide for novel biliary tract cancer therapy. *International Journal of Hepatology*, in press, 2014.
- 3)Hisashi Urushihara, Gen Kobashi, Setsuko Taneichi, Michiko Yamamoto, Takeo Nakayama,

- Koji Kawakami, Tsutomu Matsuda, Kaori Ohta, and Hiroki Surimori. Pharmaceutical company perspectives on current safety risk communications in Japan. *SpringerPlus*, in press, 2014.
- 4) Hisashi Urushihara, Shingo Kobayashi, Yasuyuki Honjo, Shinji Kosugi, and Koji Kawakami. Utilization of antipsychotic drugs in elderly patients with Alzheimer's disease in ambulatory practice in Japan. *Science Postprint*, 1(1): e00014. doi:10.14340/spp.2014.01C0003, 2014.
 - 5) Tomohisa Horibe, Aya Torisawa, Yukiko Okuno, and Koji Kawakami. Discovery of protein disulfide isomerase P5 inhibitors that reduce the secretion of MICA from cancer cells. *ChemBioChem*, in press, 2014.
 - 6) Yasuyuki Honjo, Tomohisa Horibe, Takashi Ayaki, Hiroshi Mori, Tohru Komiya, Ryosuke Takahashi, and Koji Kawakami. Protein disulfide isomerase P5-immunopositive inclusions in patients with Alzheimer disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 38: 601-609, 2014.
 - 7) Tomohisa Horibe, Aya Torisawa, Masayuki Kohno, and Koji Kawakami. Synergetic cytotoxic activity toward breast cancer cells enhanced by the combination of Antp-TPR hybrid peptide targeting Hsp90 and Hsp70-targeted peptide. *BMC Cancer*, in press, 2014.
 - 8) Shota Hamada, Shiro Hinotsu, Koji Kawai, Shigeyuki Yamada, Shintaro Narita, Koji Yoshimura, Hiroyuki Nishiyama, Yoichi Arai, Tomonori Habuchi, Osamu Ogawa, and Koji Kawakami. Antimetabolic efficacy and safety of the combination of palonosetron, aprepitant and dexamethasone in testicular cancer patients receiving 5-day cisplatin-based chemotherapy. *Supportive Care in Cancer*, in press, 2014.
 - 9) Arong Gaowa, Tomohisa Horibe, Masayuki Kohno, Keisuke Sato, Hiroshi Harada, Masahiro Hiraoka, Yasuhiko Tabata, and Koji Kawakami. Combination of hybrid peptide with biodegradable gelatin hydrogel for controlled-release and enhancement of anti tumor activity *in vivo*. *Journal of Controlled Release*, 176: 1-7, 2014.
 - 10) Hirotaka Katada, Naoichiro Yukawa, Hisashi Urushihara, Shiro Tanaka, Tsuneyo Mimori, and Koji Kawakami. Prescription patterns and trends in anti-rheumatic drug use based on a large-scale claims database in Japan. *Clinical Rheumatology*, doi 10.1007/s10067-013-2482-1, 2014.
 - 11) Shota Hamada, Yukie Yamauchi, Osamu Miyake, Motoko Nakayama, Haruko Yamamoto, and Koji Kawakami. Current environment for conducting clinical researches with medical devices in hospitals in Japan. *Journal of Clinical Trials*, 4: 153. doi:10.4172/2167-0870.1000153, 2014.
 - 12) Shota Hamada, Akiko Shibata, Hisashi Urushihara, Shintaro Sengoku, Chihiro Suematsu, and Koji Kawakami. Transaction cost analysis of new drug application affairs in Japan: a case study of a multinational pharmaceutical company. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*, 48: 371-377, 2014
 - 13) Hanae Ueyama, Shiro Hinotsu, Shiro Tanaka, Hisashi Urushihara, Masaki Nakamura, Yuji Nakamura, and Koji Kawakami. Application of a self-controlled case series study to a database study in children. *Drug Safety*, doi 10.1007/s40264-014-0148-9, 2014.
 - 14) Hisashi Urushihara and Koji Kawakami. Academic clinical trials and drug regulations in Japan: impacts of introducing the Investigational New Drug system. *Therapeutic Innovation and Regulatory Science*, 48: 463-472, 2014.
 - 15) Masayuki Kohno, Koji Ohara, Tomohisa Horibe, and Koji Kawakami. Inhibition of neurite outgrowth by neuropilin-1 binding peptide derived from semaphorin 3A. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, in press, 2013.
 - 16) Yoshie Onishi, Shiro Hinotsu, Toshiaki A. Furukawa, and Koji Kawakami. Psychotropic prescription patterns among patients diagnosed with depressive disorder based on claims database in Japan. *Clinical Drug Investigation*, 33: 597-605, 2013..
 - 17) Shota Hamada, Akiko Shibata, Hisashi Urushihara, Shintaro Sengoku, Chihiro Suematsu, and Koji Kawakami. Transaction cost analysis of new drug application affairs in Japan: a case study of a multinational pharmaceutical company. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*, in press, 2013.
 - 18) Yukie Yamauchi, Yumie Kawashima, Hisashi Urushihara, Fumiyo Kita, Yasutoshi Kobayashi, Shiro Hinotsu, Masao Nakagawa, and Koji Kawakami. Survey to physician toward their understanding of regulatory environment of clinical trials in Japan. *General Medicine*, 14: 92-103, 2013.
 - 19) Nobuyoshi Takabayashi, Hisashi Urushihara, and Koji Kawakami. Biased safety reporting in blinded randomized clinical trials: meta-analysis of angiotensin receptor blocker trials. *PLoS ONE*, 8(9): e75027. doi:10.1371/journal.pone.0075027, 2013.

- 20)Shinya Ohno, Shiro Hinotsu, Kyoko Murata, and Koji Kawakami. A survey of non-small cell lung cancer patients with meningeal carcinomatosis in Japan: incidence and medical resource consumption. *Advances in Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 2: 133. doi:10.4172/2167-1052.1000133, 2013.
- 21)Yasuyuki Honjo, Tomohisa Horibe, Takashi Ayaki, Hiroshi Mori, Tohru Komiya, Ryosuke Takahashi, and Koji Kawakami. Protein disulfide isomerase P5-immunopositive inclusions in patients with Alzheimer disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, in press, 2013.
- 22)Koji Ohara, Masayuki Kohno, and Koji Kawakami. Localization of the anti-cancer peptide EGFR-lytic hybrid peptide in human pancreatic cancer BxPC-3 cells by immunohistochemistry. *Journal of Peptide Science*, 19: 511-515, 2013.
- 23)Koji Ohara, Masayuki Kohno, Tsutomu Hamada, and Koji Kawakami. Entry of a cationic lytic-type peptide into the cytoplasm via endocytosis-dependent and -independent pathways in human glioma U251 cells. *Peptides*, 50: 28-35, 2013.
- 24)Shiro Hinotsu, Junichi Yoshikawa, Kyoko Murata, Tomohisa Horibe, and Koji Kawakami. Effect of lectures by medical students on the awareness of lifestyle for elementary school students. *Journal of Obesity & Weight loss Therapy*, 3: 167. doi:10.4172/2165-7904.1000167, 2013.
- 25)Toshi A. Furukawa, Yoshie Onishi, Shiro Hinotsu, Aran Tajika, Nozomi Takeshima, Kiyomi Shinohara, Yusuke Ogawa, Yu Hayasaka, and Koji Kawakami. Prescription patterns following first-line SSRI/SNRIs for depression in Japan: a naturalistic cohort study based on a large claims database. *Journal of Affective Disorders*, 150: 916-922, 2013.
- 26)Shota Hamada, Shiro Hinotsu, Hiroshi Ishiguro, Masakazu Toi, and Koji Kawakami. Cross-national comparison of medical costs shared by payers and patients: a case of postmenopausal women with early-stage breast cancer based on assumption case scenarios and reimbursement fees. *Breast Care*, 8: 282-288, 2013.
- 27)Yoshie Onishi, Shiro Hinotsu, Yoko M. Nakao, Hisashi Urushihara, and Koji Kawakami. Economic evaluation of pravastatin for primary prevention of coronary artery disease based on risk prediction from JALS-ECC in Japan. *Value in Health Regional Issues*, 2: 5-12, 2013.
- 28)Kahori Seto, Junichi Shoda, Tomohisa Horibe, Eiji Warabi, Kazurori Ishige, Kenji Yamagata, Masayuki Kohno, Toru Yanagawa, Hiroki Bukawa, and Koji Kawakami. Interleukin-4 receptor alpha-based hybrid peptide effectively induces antitumor activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncology Reports*, 29: 2147-2153, 2013.
- 29)Hironobu Tokumasu, Shiro Hinotsu, Fumiyo Kita, and Koji Kawakami. Predictive value of clinical chorioamnionitis in extremely premature infants. *Pediatrics International*, 55: 35-38, 2013.
- 30)Tonohisa Horibe, Aya Torisawa, Ryutaro Akiyoshi, Yoko Hatta-Ohashi, Hirobumi Suzuki, and Koji Kawakami. Transfection efficacy of normal and cancer cell lines and monitoring of promoter activity by single-cell bioluminescence imaging. *Journal of Biological Chemical Luminescence*, 2013.
- 31)Atsushi Ogawa, Shiro Hinotsu, and Koji Kawakami. Does late morning waking-up affect sleep during the following night in patients with primary insomnia? *Biological Rhythm Research*, 44: 938-948, 2013.
- 32)Megumi Kawamoto, Tomohisa Horibe, Masayuki Kohno, and Koji Kawakami. HER2-targeted hybrid peptide that blocks HER2 tyrosine kinase, disintegrates cancer cell membrane and inhibits tumor growth in vivo. *Molecular Cancer Therapeutics*, 12: 384-393, 2013.
- 33)Megumi Kawamoto, Masayuki Kohno, Tomohisa Horibe, Koji Kawakami. Immunogenicity and toxicity of transferrin receptor-targeted hybrid peptide as a potent anticancer agent. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 71: 799-807, 2013.
- 34)Shinzo Hiroi, Kenkichi Sugiura, Kumi Matsuno, Masashi Hirayama, Kenji Kuriyama, Kohei Kaku, and Koji Kawakami. A multicentre, phase III evaluation of the efficacy and safety of a new fixed-dose pioglitazone/glimepiride combination tablet in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technology and Therapeutics*, DOI10.1089/dia.2012.0246, 2013.
- 35)Koji Ohara, Masayuki Kohno, Tomohisa Horibe, and Koji Kawakami. Local drug delivery to a human pancreatic tumor via a newly designed multiple injectable needle. *Molecular and Clinical Oncology*, 1: 231-234, 2013.
- 36)Tomohisa Horibe, Aya Torisawa, Masayuki Kohno, and Koji Kawakami. Molecular mechanism of cytotoxicity induced by Hsp90-targeted Antp-TPR hybrid peptide in glioblastoma cells. *Molecular Cancer*, 11: 59, 2012.
- 37)Hisashi Urushihara, Sayako Matsui, and Koji Kawakami. Emergency authorization of

- medicinal products: regulatory challenges from the 2009 H1N1 influenza pandemic in Japan. *Biosecurity and Bioterrorism*, 10: 372-382, 2012.
- 38) Yasuyuki Honjo, Hidefumi Ito, Tomohisa Horibe, Hiroyuki Shimada, Aki Nakanishi, Hiroshi Mori, Ryosuke Takahashi, and Koji Kawakami. Darlin-1 immunopositive inclusions in patients with Alzheimer disease. *NeuroReport*, 23: 611-615, 2012.
- 39) Hisashi Urushihara, Yukiko Doi, Masaru Arai, Toshiyuki Matsunaga, Yosuke Fujii, Naoko Iino, Takashi Kawamura, and Koji Kawakami. Oseltamivir prescription and regulatory actions vis à vis abnormal behavior risk in Japan: Drug utilization study using a nationwide pharmacy database. *PLoS ONE*, 6(12): e28483, 2012.
- 40) Tomohisa Horibe, Megumi Kawamoto, Masayuki Kohno, and Koji Kawakami. Cytotoxic activity to acute myeloid leukemia cells by Antp-TPR hybrid peptide targeting Hsp90. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 114: 96-103, 2012.
- 41) Sayo Hashimoto, Hisashi Urushihara, Shiro Hinotsu, Shinji Kosugi, and Koji Kawakami. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on blood pressure in hypertensive patients treated with blood pressure-lowering agents: retrospective study using an anti-hypertensive drug database. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16: 235-241, 2012.
- 42) Yoko M. Nakao, Satoshi Teramukai, Sachiko Tanaka, Shinji Yasuno, Akira Fujimoto, Masato Kasahara, Kenji Ueshima, Kazuhiro Nakao, Shiro Hinotsu, Kazuwa Nakao, and Koji Kawakami. Effects of renin-angiotensin system blockades on cardiovascular outcomes in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 96: 68-75, 2012.
- 43) Yasutoshi Kobayashi, Yasuaki Hayashino, Nobumasa Takagaki, Shiro Hinotsu, Jeffrey L. Jackson, and Koji Kawakami. Diagnostic performance of chromoendoscopy and narrow band imaging for colonic neoplasms: meta-analysis. *Colorectal Disease*, 14: 18-28, 2012.
- 44) Shota Hamada, Shiro Hinotsu, Katsuhito Hori, Hiroshi Furuse, Takehiro Oikawa, Junichi Kawakami, Seiichiro Ozono, Hideyuki Akaza, and Koji Kawakami. The cost of antiemetic therapy for chemotherapy-induced nausea and vomiting in patients receiving platinum-containing regimens in daily practice in Japan: a retrospective study. *Supportive Care in Cancer*, 20: 813-820, 2012.
- 45) Makoto Kishida, Kazunori Ishige, Tomohisa Horibe, Noriko Tada, Nobutaka Koibuchi, Junichi Shoda, Kiyoshi Kita, and Koji Kawakami. Orexin 2 receptor as a potential target for the immunotoxin and antibody-drug conjugate cancer therapy. *Oncology Letters*, 3: 525-529, 2012.
- 46) Hanae Ueyama, Tomohisa Horibe, Shiro Hinotsu, Tomoaki Tanaka, Takeomi Inoue, Hisashi Urushihara, Akira Kitagawa, and Koji Kawakami. Chromosomal variability of human mesenchymal stem cells cultured under hypoxic condition. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16: 72-82, 2012.
- 47) Fumiyo Kita, Shiro Hinotsu, Tohru Yorifuji, Tetsuro Shimakawa, Kenji Kishida, Yoshihiro Wakazono, Eiko Yamauchi, Hiroshi Sasaki, Taksutoshi Nakahata, and Koji Kawakami. Domperidone in combination with ORT for the treatment of acute gastroenteritis in children: a multicenter, randomized controlled trial. *Asia-Pacific Journal of Public Health*, in press, Jan 10 2012.
- < 著書および総説 >
- 1) Shiro Tanaka, Sachiko Tanaka, and Koji Kawakami. Statistical issues in observational studies in oncology in the era of big data. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, in press, 2014.
- 2) Yoko M. Nakao and Koji Kawakami. Abdominal obesity: why it matters. *Journal of Obesity & Weight loss Therapy*, 4: e111. doi:10.4172/2165-7904.1000e111, 2014.
- 3) Yoko Uryuhara and Koji Kawakami. The contribution of pharmaceuticals in the history of organ transplantation. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 5: 277. doi: 10.4172/2153-2435.1000277, 2014.
- 4) 大西 佳恵, 川上 浩司. 心血管イベントの一次予防としてのスタチンの費用対効果研究と政策応用. *医薬ジャーナル*, 50(11)111-115, 2014.
- 5) 川上 浩司. 医療技術と薬剤の評価に関する国際動向. *血液内科*, 68(4)548-551, 2014.
- 6) 川上 浩司. 医療や看護における臨床及び経済評価. *日本糖尿病教育・看護学会誌*, 18(1)56-59, 2014.
- 7) 村田 京子, 川上 浩司. 分子標的薬・コンパニオン診断薬の医療技術評価の現状と課題 (登壇企画: コンパニオン診断 - 診断薬開発から承認審査、臨床応用へ -). *医学のあゆみ*, 248 (11) 857-860, 2014.
- 8) 川上 浩司. 「製品種別ごとのデータ・情報の取得とまとめ方のポイント: 核酸医薬, 遺伝子治療薬, 細胞治療薬における留意点」医

- 薬品/医療機器の承認申請書の上手な書き方・まとめ方-審査に不可欠なデータ・情報の取得の仕方. 技術情報協会, pp346-348, 2014.
- 9)川上 浩司. 「薬剤疫学の課題と展望」「比較有効性研究」臨床研究のススメ. 井村裕夫監修. 最新医学社, pp141-146, pp185-192, 2014.
- 10)川上 浩司. 「薬事申請を成功させるポイント: FDA 編」欧米中の薬事申請と関連書類事例. 技術情報協会, pp260 - 266, 2013.
- 11)川上 浩司. 「薬事から見た再生医療周辺技術とバイオマテリアル」幹細胞医療の実用化技術と産業展望 (江上 美芽・水谷 学監修). シーエムシー出版, pp11-15, 2013.
- 12)川上 浩司. (朝倉正紀企画: 循環器病学における臨床研究-いかに確実に臨床に還元するか-). 医学のあゆみ, 244 (13): 1093-1097, 2013.
- 13)川上 浩司. 医療イノベーションにおける創薬の出口戦略. 医薬ジャーナル増刊号「新薬展望 2013」. 49 (s-1) 25 - 29, 2013.
- 14)漆原 尚巳, 川上 浩司, 中山 健夫, 黒川 達夫, 小杉 眞司. データベース研究への誘い. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 44(6)471-479, 2013.
- 15)川上 浩司. 「癌ワクチンの関連規制: FDAの動向」稀少疾患・難病の診断治療技術と製品開発. 技術情報協会, pp350-354, 2012.
- 16)川上 浩司. 「米国における感染症関連行政とワクチン開発の動向」ワクチンの開発の市場動向と開発・製造実務集. 技術情報協会, pp115-121, 2012.
- 17)川上 浩司. 「医療政策、医療技術評価、リテラシー: 先制医療の視点から。」日本の未来を拓く医療. 井村裕夫編集. 診断と治療社, pp107-115, 2012.
- 18)川上 浩司. 「バイオ医薬品の薬事申請とレギュラトリーサイエンス」新機能抗体開発ハンドブック (次世代抗体創製から産業への展開まで). エヌ・ティー・エス, pp561-567, 2012.
- 19)Norie Kawahara, Hideyuki Akaza, Jae Kyung Roh, Kenji Shibuya, Hajime Inoue, Keizo Takemi, Shinjiro Nozaki, Koji Kawakami, and Masaru Iwasaki. Global health as the key to a new paradigm in cancer research (The 8th Asia Cancer Forum: Seeking to Advance the Outcomes of the UN Summit). *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 42: 1222-1231, 2012.
- 20)川上 浩司. 比較有効性研究. 最新医学, 67 (10) 122-125, 2012.
- 21)川上 浩司. 薬剤疫学と薬理学. 日本薬理学会雑誌(*Folia Pharmacol. Jpn.*), 140: 174-176, 2012.
- 22)漆原 尚巳, 川上 浩司. 日本におけるオセルタミビル処方と異常行動リスクに対する規制措置の影響 -保険薬局データベースを用いた医薬品使用実態調査. *インフルエンザ*, 13 (3) 37-43, 2012.
- 23)川上 浩司. 創薬/創医療機器: なぜ私は海外に活路を求めるのか、なぜ私は日本に活路を見いだすのか-京都大学における開発型臨床試験と環境整備-. 慶應義塾大学シンポジウム. *臨床医薬*, 28 (8): 665-678, 2012.
- 24)川上 浩司. 薬剤疫学の課題. 最新医学, 67(4): 123-126, 2012.
- 25)川上 浩司. 医薬品・医療機器の開発: 現状と日本の問題点. 日本眼内レンズ屈折手術学会誌 (*IOL&RS*), 26(1)107-110, 2012.
- 26)川上 浩司. 未承認医療機器を用いた臨床研究. *薬理と治療*, 40: S23-S24, 2012.
- 27)川上 浩司, 他 13 名. 「未承認医療機器を用いた臨床研究実施の手引き」抜粋版. *薬理と治療*, 40: S48-S52, 2012.
- 28)川上 浩司. 臨床試験にかかるキャリアパスを考える (第 2 回日本臨床試験研究会学術集会会長講演). *薬理と治療*, 40: S38-S40, 2012.

國澤純

- 1)H. Suzuki and J. Kunisawa*, Vitamin-mediated immune regulation in the development of inflammatory diseases, *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* (accepted)
- 2)Y. Kurashima, H. Kiyono, and J. Kunisawa*, Pathophysiological role of extracellular purinergic mediators in the control of intestinal inflammation, *Mediators of Inflammation* (accepted)
- 3)J. Kunisawa*, Vitamin B9 and ATP in the control and development of intestinal inflammation, *Inflammation and Regeneration* (in press)
- 4)J. Kunisawa* and H. Kiyono, Vitamins mediate immunological homeostasis and diseases at the surface of the body, *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* (in press)
- 5)Y. Goto, T. Obata, J. Kunisawa, S. Sato, I. I. Ivanov, A. Lamichhane, N. Takeyama, M. Kamioka, M. Sakamoto, T. Matsuki, H. Setoyama, A. Imaoka, S. Uematsu, S. Akira, S. E. Domino, P. Kulig, B. Becher, J. Renauld, C. Sasakawa, Y. Umesaki, Y. Benno, and H. Kiyono, Innate lymphoid cells govern intestinal epithelial fucosylation, *Science* 345(6202):1254009, 2014

- 6) A. Sato, A. Suwanto, M. Okabe, S. Sato, T. Nochi, T. Imai, N. Koyanagi, J. Kunisawa, Y. Kawaguchi, and H. Kiyono, Vaginal memory T cells induced by intranasal vaccination are critical for protective T cell recruitment and prevention of genital HSV-2 disease, *J Virol* 88(23):13699-13708, 2014
- 7) J. Kunisawa*, E. Hashimoto, A. Inoue, R. Nagasawa, Y. Suzuki, I. Ishikawa, S. Shikata, M. Arita, J. Aoki, and H. Kiyono, Regulation of intestinal IgA responses by dietary palmitic acid and its metabolism, *J Immunol* 193: 1666-1671, 2014
- 8) Y. Kurashima, T. Amiya, K. Fujisawa, N. Shibata, Y. Suzuki, Y. Kogure, E. Hashimoto, A. Otsuka, K. Kabashima, S. Sato, T. Sato, M. Kubo, S. Akira, K. Miyake, J. Kunisawa*, and H. Kiyono, The enzyme Cyp26b1 mediates inhibition of mast cell activation by fibroblasts to maintain skin-barrier homeostasis, *Immunity* 40: 530-41, 2014
- 9) Y. Kotani, J. Kunisawa*, Y. Suzuki, I. Sato, T. Saito, M. Toba, N. Kohda, and H. Kiyono, Role of Lactobacillus pentosus strain b240 and the Toll-like receptor 2 axis in Peyer's patch dendritic cell-mediated immunoglobulin A enhancement, *PLoS One* 9(3):e91857, 2014
- 10) T. Obata, N. Shibata, Y. Goto, I. Ishikawa, S. Sato, J. Kunisawa*, and H. Kiyono, Critical role of dendritic cells in T-cell retention in the interfollicular region of Peyer's patches, *J Immunol* 191: 942-8, 2013
- 11) J. Kunisawa*, M. Gohda, E. Hashimoto, I. Ishikawa, M. Higuchi, Y. Suzuki, Y. Goto, C. Panea, I. I. Ivanov, R. Sumiya, L. Aayam, T. Wake, S. Tajiri, Y. Kurashima, S. Shikata, S. Akira, K. Takeda, and H. Kiyono, Microbe-dependent CD11b⁺ IgA⁺ plasma cells in early-phase robust intestinal IgA responses in mice, *Nat Commun* 4: 1772, 2013
- 12) S. Sato, S. Kaneto, N. Shibata, Y. Takahashi, H. Okura, Y. Yuki, J. Kunisawa, and H. Kiyono, Transcription factor Spi-B-dependent and -independent pathways for the development of Peyer's patch M cells, *Mucosal Immunol* 6: 838-46, 2013
- 13) Y. Fukuyama, D. Tokuhara, S. Sekine, K. Aso, K. Kataoka, J. Davydova, M. Yamamoto, R.S. Gilbert, Y. Tokuhara, K. Fujihashi, J. Kunisawa, Y. Yuki, H. Kiyono, J.R. McGhee, K. Fujihashi, Potential roles of CCR5⁺ CCR6⁺ dendritic cells induced by nasal ovalbumin plus Flt3 ligand expressing adenovirus for mucosal IgA responses, *PLoS One* 8: e60453, 2013
- 14) I. Kong, A. Sato, Y. Yuki, T. Nochi, H. Takahashi, S. Sawada, M. Mejima, S. Kurokawa, K. Okada, S. Sato, D. Briles, J. Kunisawa, Y. Inoue, M. Yamamoto, K. Akiyoshi, and H. Kiyono, Nanogel-based PspA intranasal vaccine prevents invasive disease and nasal colonization by pneumococcus, *Infection and Immunity* 81: 1625-34, 2013
- 15) T. Nagatake, and J. Kunisawa*, Unique functions of mucosa-associated lymphoid tissues as targets of mucosal vaccines, *Curr Topics Pharmacol*, 17: 13-23, 2013
- 16) A. Lamichhane, H. Kiyono, and J. Kunisawa*, Nutritional components regulate the gut immune system and its association with intestinal immune disease development, *J Gastroenterol Hepatol* 28: 18-24, 2013
- 17) J. Kunisawa* and H. Kiyono, Vitamin-mediated regulation of intestinal immunity. *Front in Immunol* 4:189, 2013
- 18) M. Kamioka, H. Kiyono, and J. Kunisawa*, Herbal medicine-initiated approaches for the elucidation of immunological network in the intestine, *J Tradition Med* 30, 56-61, 2013
- 19) J. Kunisawa* and H. Kiyono, Immune regulation and surveillance at the epithelial surface of the intestine. *Drug Discov Today* 18:87-92, 2013
- 20) J. Kunisawa*, Y. Kurashima, and H. Kiyono, Gut-associated lymphoid tissues for the development of oral vaccine. *Adv Drug Deliv Rev* 64: 523-30, 2012

駒瀬 勝啓

- 1) Takahashi T, Arima Y, Kinoshita H, Kanou K, Saitoh T, Sunagawa T, Ito H, Kanayama A, Tabuchi A, Nakashima K, Yahata Y, Yamagishi T, Sugawara T, Ohkusa Y, Matsui T, Arai S, Satoh H, Tanaka-Taya K, Komase K, Takeda M, Oishi K, Ongoing increase in measles cases following importations, Japan, March 2014: times of challenge and opportunity. *Western Pac Surveill Rresponse J* 16; 5(2) 31-3 (2014)
- 2) Abo H, Okamoto K, Anraku M, Otsuki N, Sakata M, Icenogle J, Zheng Q, Kurata T, Kase T, Komase K, Takeda M, Mori Y. Development of an improved RT-LAMP assay for detection of currently circulating rubella viruses. *Journal of Virological Methods*. 2014; 207, 73-77.
- 3) Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzuki Y, Ainai 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*. 88: 5608-5616. 2014.
- 4) Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. (2013) The receptor-binding site of the measles virus

- hemagglutinin protein itself constitutes a conserved neutralizing epitope. *J Virol.* 87:3583-6.
- 5) Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. (2013) Intracellular transport of the measles virus ribonucleoprotein complex is mediated by Rab11A-positive recycling endosomes and drives virus release from the apical membrane of polarized epithelial cells. *J Virol.* 87:4683-93.
 - 6) Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma X, He J, Xu S, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. Functional and structural characterization of neutralizing epitopes of measles virus hemagglutinin protein. *J Virol.* 2012 Oct 31
 - 7) 駒瀬勝啓 竹田誠 海外の麻疹の情報 2013 病原微生物検出情報 35 (4); 97-98 (2014)
 - 8) 山岸拓也、伊東宏明 八幡裕一郎 中島一敏 松井珠乃 高橋琢理 木下一美 砂川富正 奥野英雄 多屋馨子 大石和徳 駒瀬勝啓 三崎貴子 丸山絢 大嶋孝弘 清水英明 岩瀬耕一 岡部信彦 小泉祐子 平岡麻理子 瀬戸成子 杉本徳子 荷見奈緒美 熊谷行広 大塚吾郎 杉下由行 甲賀健史 鈴木理恵子 阿南弥生子 舟久保麻理子 弘光明子 坂本洋 阿部勇治 氏家無限 潜在的な疫学リンクが疑われた D8 型ウイルスによる麻疹広域散発事例 病原微生物検出情報 35 (4); 100-102 (2014)
 - 9) 竹田誠 駒瀬勝啓 輸入麻疹と国内伝播感染症 44(6) 206-217 (2014)
 - 10) 古川英臣 梶山桂子 宮代 守 佐藤正雄 伊藤孝子 酒井由美子 井出瑤子 植山誠 眞野理恵子 衣笠有紀 戸川 温 高田 徹 猪狩洋介 駒瀬勝啓 フィリピン渡航者への D9 型麻疹ウイルスの検出-福岡市 病原微生物検出情報 35 (5); 132 (2014)
 - 11) 岡本貴世子、森嘉生、落合雅樹、庵原俊昭、大槻紀之、海野幸子、竹田誠、駒瀬勝啓 抗麻疹 IgG 国内標準品の作製、および ELISA 法による IgG 抗体価 (国際単位) と HI 抗体価の相関性の解析 臨床化学 42; 146-150 (2013)
 - 12) 駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹、風疹、ムンプスの検査診断の現状 臨床と微生物、近代出版 39(6):656-662 (2013)
 - 13) 倉田貴子 上林大起 駒野 淳 西村公志 加瀬哲男 高橋和郎 大平文人 松井陽子 伊達啓子 熊井優子 久保英幸 改田 厚 後藤 薫 長谷 篤 大阪市保健所 廣川秀徹 吉田英樹 内野清子 三好龍也 田中智之 森 嘉生 大槻紀之 坂田真史 駒瀬勝啓 竹田 誠、大阪府内における 2012 年の風疹患者発生状況、病原微生物検出情報 34 (4); 97-98 (2013)
 - 14) 森 嘉生 大槻紀之 岡本貴世子 坂田真史 駒瀬勝啓 竹田 誠、風疹ウイルスの遺伝子型別動向と検査診断マニュアル改訂、病原微生物検出情報 34 (4); 99-100 (2013)
 - 15) 梶山桂子 古川英臣 宮代 守 佐藤正雄 伊藤孝子 酒井由美子 植山 誠 眞野理恵子 衣笠有紀 戸川 温 高田 徹 田村和夫 駒瀬勝啓 タイからの B3 型麻疹ウイルス輸入例—福岡市、病原微生物検出情報 34 (7); 201-202 (2013)
 - 16) 駒瀬勝啓、竹田誠 海外の麻疹状況-2013-、病原微生物検出情報 34 (7); 201-202 (2013)
 - 17) 駒瀬勝啓 質疑応答 麻疹の検査診断方法、医事新報 4605: 57-59 (2012)
 - 18) 駒瀬勝啓 麻疹排除の進捗と麻疹輸入例の増加-麻疹排除に向けた今後の課題-、小児科 金原出版 53 (1):105-112 (2012)
 - 19) 駒瀬勝啓 麻疹ワクチン、風疹ワクチンの品質管理、臨床とウイルス 40(5): 334-42、日本臨床ウイルス学会
- 倉田 毅
- 1) Iwai-Itamochi M, Yoshida H, Obara-Nagoya M, Horimoto E, Kurata T, Takizawa T. Development of real-time PCR to detect oral vaccine-like poliovirus and its application to environmental surveillance. *J Virol Methods.* 2014 Jan;195:148-55.
 - 2) 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 1;9(9):1962-70.
 - 3) 倉田 毅, バイオセーフティ バイオセーフティとバイオセキュリティ: 実のある常識的対応水準の確保が急務, バムサジャーナル. 25(2),52-57. 2013
 - 4) Aina A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H., Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine., *J. Med. Virol.* 2012, 84(2): 336-44.
- 濱口 功

- 1) Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhashi K, Ishii KJ, Hamaguchi I, Yamaguchi K. System vaccinology for the evaluation of influenza vaccine safety by multiplex gene detection of novel biomarkers in a preclinical study and batch release test. *PLoS One*. 2014; 9: e101835
 - 2) Krayukhina E, Uchiyama S, Nojima K, Okada Y, Hamaguchi I, Fukui K: Aggregation analysis of pharmaceutical human immunoglobulin preparations using size-exclusion chromatography and analytical ultracentrifugation sedimentation velocity. *J Biosci Bioeng*. 115: 104-110. 2013
 - 3) Takizawa K, Nakashima T, Mizukami T, Kuramitsu M, Endoh D, Kawauchi S, Sasaki K, Momose H, Kiba Y, Mizutani T, Furuta R, Yamaguchi K, Hamaguchi I: Degenerate PCR strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus in the blood screening. *Transfusion*. 53(10 Pt 2):2545-55.2013
 - 4) Odaka C, Kato H, Otsubo H, Takamoto S, Okada Y, Taneichi M, Okuma K, Sagawa K, Hoshi Y, Tasaki T, Fujii Y, Yonemura Y, Iwao N, Tanaka A, Okazaki H, Momose S, Kitazawa J, Mori H, Matsushita A, Nomura H, Yasoshima H, Ohkusa Y, Yamaguchi K, Hamaguchi I: Online reporting system for transfusion-related adverse events to enhance recipient haemovigilance in Japan: a pilot study. *Transfus Apher Sci*. 48: 95-102, 2013.
- 宮崎 義継
- 1) Saraya T, Tanabe K, Araki K, Yonetani S, Makino H, Watanabe T, Tsujimoto N, Takata S, Kurai D, Ishii H, Miyazaki Y, Takizawa H, Goto H. Breakthrough invasive *Candida glabrata* in patients on micafungin: a novel FKS gene conversion correlated with sequential elevation of MIC. *Journal of Clinical Microbiology*. 52(7):2709-2712, 2014.
 - 2) Urai M, Kaneko Y, Niki M, Inoue M, Tanabe K, Umeyama T, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y. Potent drugs that attenuate anti-*Candida albicans* activity of fluconazole and their possible mechanisms of action. *J Infect Chemother*. 20(10):612-615, 2014.
 - 3) Ikeda I, Ohno T, Ohno H, Miyazaki Y, Nishimoto K, Fukushima S, Makino T, Ihn H. A case of *Fusarium paronychia* successfully treated with occlusive dressing of antifungal cream. *J Dermatol*. 41(4):340-2, 2014.
 - 4) Tarumoto N, Kinjo Y, Kitano N, Sasai D, Ueno K, Okawara A, Izawa Y, Shinozaki M, Watarai H, Taniguchi M, Takeyama H, Maesaki S, Shibuya K, Miyazaki Y. Exacerbation of Invasive *Candida albicans* Infection by Commensal Bacteria or a Glycolipid Through IFN- γ Produced in Part by iNKT Cells. *J Infect Dis*. , 2014.
 - 5) Seki M, Ohno H, Gotoh K, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Miyazaki Y, Tomono K. Allergic bronchopulmonary mycosis due to co-infection with *Aspergillus fumigatus* and *Schizophyllum commune*. *IDCases*. 1:5-8, 2014.
 - 6) Norkaew T, Ohno H, Sriburee P, Tanabe K, Tharavichitkul P, Takarn P, Puengchan T, Burmrungsri S, Miyazaki Y. Detection of environmental sources of *Histoplasma capsulatum* in Chiang Mai, Thailand by nested PCR. *Mycopathologia*. 176(5):395-402, 2013.
 - 7) Kaneko Y, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y. Combinatory effect of fluconazole and FDA-approved drugs against *Candida albicans*. *J Infect Chemother*. 19(6):1141-5, 2013.
 - 8) Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Application of nested PCR for diagnosis of histoplasmosis. *J Infect Chemother*. 19(5):999-1003, 2013.
 - 9) Miyasaka T, Akahori Y, Toyama M, Miyamura N, Ishii K, Saijo S, Iwakura Y, Kinjo Y, Miyazaki Y, Oishi K, Kawakami K. Dectin-2-dependent NKT cell activation and serotype-specific antibody production in mice immunized with pneumococcal polysaccharide vaccine. *PLoS One*. 8(10):e78611, 2013.
 - 10) Hosogaya N, Miyazaki T, Nagi M, Tanabe K, Minematsu A, Nagayoshi Y, Yamauchi S, Nakamura S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kugiyama K, Kohno S. The heme-binding protein Dap1 links iron homeostasis to azole resistance via the P450 protein Erg11 in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res*. 13(4):411-21, 2013.
 - 11) Kaneko Y, Miyagawa S, Takeda O, Hakariya M, Matsumoto S, Ohno H, Miyazaki Y. Real-time microscopic observation of *Candida* biofilm development and effects due to micafungin and fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 57(5):2226-30, 2013.
 - 12) Umeyama T, Ohno H, Minamoto F, Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, Miyazaki Y. Determination of epidemiology of clinically isolated *Cryptococcus neoformans* strains in Japan by multilocus sequence typing. *Jpn J Infect Dis*. 2013, 66(1):51-5.
 - 13) Nagi M, Tanabe K, Ueno K, Nakayama H, Aoyama T, Chibana H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y. The *Candida glabrata* sterol scavenging mechanism, mediated by the ATP-binding cassette transporter *Aus1p*, is regulated by iron limitation. *Mol Microbiol*. 88:371-381, 2013.

- 14) Ueno K, Okawara A, Yamagoe S, Naka T, Umeyama T, Utena-Abe Y, Tarumoto N, Niimi M, Ohno H, Doe M, Fujiwara N, Kinjo Y, Miyazaki Y. The mannan of *Candida albicans* lacking β -1,2-linked oligomannosides increases the production of inflammatory cytokines by dendritic cells. *Med Mycol*. 51:385-395, 2013.
- 15) Kaneko Y, Miyagawa S, Takeda O, Hakariya M, Matsumoto S, Ohno H, Miyazaki Y. Real-time microscopic observation of *Candida* biofilm development and effects due to micafungin and fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 57:2226-2230, 2013.
- 16) Hosogaya N, Miyazaki T, Nagi M, Tanabe K, Minematsu A, Nagayoshi Y, Yamauchi S, Nakamura S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kugiyama K, Kohno S. The heme-binding protein Dap1 links iron homeostasis to azole resistance via the P450 protein Erg11 in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res*. 13:411-421, 2013.
- 17) Okubo Y, Wakayama M, Ohno H, Yamamoto S, Tochigi N, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Umeyama T, Shinozaki M, Nemoto T, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Shimodaira K, Yamamoto Y, Kamei K, Miyazaki Y, Shibuya K. Histopathological study of murine pulmonary cryptococcosis induced by *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. *Jpn J Infect Dis*. 66:216-221, 2013.
- 18) Okubo Y, Tochigi N, Wakayama M, Shinozaki M, Nakayama H, Ishiwatari T, Shimodaira K, Nemoto T, Ohno H, Kaneko Y, Makimura K, Uchida K, Miyazaki Y, Yamaguchi H, Shibuya K. How Histopathology Can Contribute to an Understanding of Defense Mechanisms against Cryptococci. *Mediators Inflamm*. 2013:465319, 2013.
- 19) Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Application of nested PCR for diagnosis of histoplasmosis. *J Infect Chemother*. 19:999-1003, 2013.
- 20) Kaneko Y, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y. Combinatory effect of fluconazole and FDA-approved drugs against *Candida albicans*. *J Infect Chemother*. Epub ahead of print.
- 21) Mihara T, Izumikawa K, Kakeya H, Ngamskulrungraj P, Umeyama T, Takazono T, Tashiro M, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Multilocus sequence typing of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV associated cryptococcosis in Nagasaki, Japan. *Med Mycol*. epub ahead of print.
- 22) Sugiura K, Sugiura N, Yagi T, Iguchi M, Ohno H, Miyazaki Y, Akiyama M. Cryptococcal cellulitis in patient with bullous pemphigoid. *Acta Derm Venereol*. epub ahead of print.
- 23) Miyasaka T, Aoyagi T, Uchiyama B, Oishi K, Nakayama T, Kinjo Y, Miyazaki Y, Kunishima H, Hirakata Y, Kaku M, Kawakami K. A possible relationship of natural killer T cells with humoral immune response to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in clinical settings. *Vaccine*. 30:3304-3310, 2012.
- 24) Kimura M, Araoka H, Uchida N, Ohno H, Miyazaki Y, Fujii T, Nishida A, Izutsu K, Wake A, Taniguchi S, Yoneyama A. *Cunninghamella bertholletiae* pneumonia showing a reversed halo sign on chest computed tomography scan following cord blood transplantation. *Med Mycol*. 50:412-416, 2012.
- 25) Miyazaki H, Kobayashi R, Ishikawa H, Awano N, Yamagoe S, Miyazaki Y, Matsumoto T. Activation of COL1A2 promoter in human fibroblasts by *Escherichia coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 65:481-487, 2012.
- 26) Gyotoku H, Izumikawa K, Ikeda H, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Nishino T, Miyazaki T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Yaguchi T, Ohno H, Miyazaki Y, Kamei K, Kanda T, Kohno S. A case of bronchial aspergillosis caused by *Aspergillus udagawae* and its mycological features. *Med Mycol*. 50:631-636, 2012.
- 雑誌 (原著および総説)・邦文
- 1) 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継. 真菌症-よく目にする真菌症から今後注意すべき真菌症まで-*Aspergillus*: 病態と抗原価の関連. *感染症内科*. 2(6):575-580, 2014年.
- 2) 金子幸弘, 浦井 誠, 宮崎義継. III 診断・治療法から見た大切な真菌症、4 治療薬の選択と投与. *目で見る真菌と真菌症*. p192-202, 2014年, 医薬ジャーナル社, 大阪.
- 3) 河野 茂, 亀井克彦, 二木芳人, 宮崎義継. 座談会: 深在性真菌症の診断・治療ガイドラインを読み解く. *呼吸*. 33(5):435-43, 2014年.
- 4) 大野秀明, 宮崎義継. 日本にも現れたクリプトコックス・ガッティ. *日経サイエンス*. 44(5):76p76, 2014年, 日本経済新聞出版社, 東京.
- 5) 田辺公一, 宮崎義継. 耐性病原体 up-to-date ~ 耐性メカニズムから治療戦略まで ~、I 抗微生物薬に対する耐性メカニズム、2 抗真菌薬耐性. *化学療法の領域*. 30(S-1):20-5, 2014年.
- 6) 宮崎義継, 砂川富正, 大石和徳. ミニ特集: 病原体サーベイランス体制とその利用、国立感染症研究所の立場から. *小児科*. 55(4):403-6, 2014年.
- 7) 浦井 誠, 金子幸弘, 宮崎義継. 深在性真菌症における治療薬の選択の変化 ガイドライン改訂から見えてくる今後の治療展望.

- どう変わり、どう攻める？深在性真菌症の新しい治療. 感染と抗菌薬. 1:5-13, 2014 年.
- 8) 浦井 誠, 金子幸弘, 宮崎義継. どう変わり、どう攻める？深在性真菌症の新しい治療: 深在性真菌症における治療薬の選択の変化ガイドライン改訂から見えてくる今後の治療展望. 感染と抗菌薬. 17(1):5-13, 2014 年.
- 9) 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継. ムーコル症: 診断の実際とピットフォール. 呼吸器内科. 25(1):32-7, 2014 年.
- 10) 樽本憲人, 金城雄樹, 北野尚樹, 渋谷和俊, 前崎繁文, 宮崎義継. 全身性カンジダ感染増悪における iNKT 細胞の関与. Med Mycol J. 55J:J115-J122, 2014 年.
- 11) 大野秀明, 荒岡秀樹, 梅山 隆, 金子幸弘, 宮崎義継. 接合菌症. 臨床検査. 58(1):97-103, 2014 年.
- 12) 浦井 誠, 金子幸弘, 宮崎義継. ミニ特集 22 微生物の共存・共生と相互作用 ヒト vs 真菌 vs 細菌-人類の敵の敵は、味方か敵か-. 日本乳酸菌学会誌. 24(3):177, 2013 年.
- 13) 大野秀明, 宮崎義継. 真菌性脳髄膜炎の遺伝子診断. 臨床神経学. 53(11):1191-3, 2013 年.
- 14) 梅山 隆, 宮崎義継. 幅広い微生物検査を目指して-検出度は低いが医学的に重要な細菌・真菌感染症の検査法. 臨床と微生物. 40(増刊号):616-20, 2013 年, 近代出版, 東京.
- 15) 金子幸弘, 浦井 誠, 宮崎義継. カラーグラフィック連載「目で見る真菌と真菌症」4. 治療薬の選択と投与. 化学療法の領域. 29(9):4-14, 2013 年.
- 16) 大野秀明, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 宮崎義継. Cryptococcus gattii 感染症 -新興・再興感染症 up to date-. 化学療法の領域. 29(S-1):1144-51, 2013 年.
- 17) 宮崎義継, 田辺公一, 梅山 隆, 名木 稔, 金子幸弘, 山越 智, 上野圭吾, 金城雄樹, 大川原明子, 大野秀明. アスペルギルス症. 感染症道場. 2(2):20-3, 2013 年.
- 18) 町田安孝, 福島康次, 三好祐顕, 小原一記, 池田康紀, 亀井克彦, 宮崎義継, 福田 健. 経気管支鏡肺生検および気管支肺胞洗浄にて診断された慢性肺コクシジオイデス症の 1 例. 日本呼吸器学会雑誌. 2:274-278, 2013.
- 19) 大野秀明, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 宮崎義継. Cryptococcus gattii 感染症 -新興・再興感染症 up to date-. 化学療法の領域. 29 S-1:1144-1151, 2013.
- 20) 堀内一宏, 山田萌美, 白井慎一, 高橋育子, 加納崇裕, 金子幸弘, 秋沢宏次, 梅山 隆, 宮崎義継, 矢部一郎, 佐々木秀直. 脳室内抗真菌薬投与が奏効した Cryptococcus gattii による脳および肺クリプトコックス症の 1 例. 臨床神経学. 52: 166-171, 2012.
- 21) 宮崎義継, 金子幸弘, 梅山 隆, 田辺公一, 大野秀明. Cryptococcus gattii 感染症. 感染症. 42:172-175, 2012.

書籍

- 1) 梅山 隆, 宮崎義継. 侵襲性カンジダ症の診断～血清診断～遺伝子診断. . 侵襲性カンジダ症. 115-117, 2014 年, 医薬ジャーナル社.
- 2) 宮崎義継, 金子幸弘, 樽本憲人. V. 感染症検査・真菌. パーフェクトガイド検査値事典 [第 2 版]. 477-481, 2014 年, 総合医学社.
- 3) 宮崎義継. 2 章 深在性真菌症における臨床的課題. 久米 光, 渋谷和俊監修. 深在性真菌症 病理診断アップデートレビュー. p17-22, 2012 年, 協和企画, 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 1) 「免疫活性を有する DNA の同定」(国際特許 WO0015768)
- 2) 「ヒト型 CpG DNA の同定」(国際特許 WO0151500)
- 3) 「CpG DNA 輸送リボソームの開発」(国際特許 WO03040308)
- 4) 特許の名称:「新規アジュバント」出願番号: PCT/JP2008/69919 (特願 2007-285737) 出願人: 国立大学法人大阪大学、日本全薬工業 発明者: 審良静男、石井 健、チョバン ジェヴァイア、津久井利広
- 5) 特許の名称:「Zc3ch12 機能抑制物質および自然免疫賦活剤を用いた新規アジュバント」出願番号: 特願 2009 - 46990 出願人: 国立大学法人大阪大学、発明者: 審良静男、竹内理、松下一史、石井 健
- 6) 特許の名称:「新規マラリアワクチン及びアジュバント」出願番号: 特願 2009 - 111967 出願人: 国立大学法人大阪大学 発明者: 堀井俊宏; 石井健; 東岸任弘

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

資料1 研究班のワクチンガイドライン検討班 会議について

2014年7月8日、2015年1月20日の2回にわたり、本研究班のガイドラインの検討会議を行った。

第1回目の会議では、始めに、代表研究者である石井プロジェクトリーダーよりアジュバント含有ワクチンのガイドラインの作成について説明があった。ガイドラインの項目等の検討の中で、国内のアジュバントに係る審査上の取り扱いと海外でのアジュバントの審査上の取り扱いの違いの情報交換、必要とされるガイドラインの内容について、具体例を挙げての検討、国内外のワクチンのガイドライン等の状況、海外の動物実験等の状況及び国内の国家検定にかかる現状等について報告があり、ワーキンググループの設置と分担の大枠を決定した。

分担研究者の医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターの保富 康宏センター長より、FDAのワクチン開発における使用動物や試験期間等の指導状況等について説明があった。

感染所研究所の加藤篤部長より、ワクチンの検査基準について、日本、中国及び韓国との実施状況と代替方法の検討状況の報告と、現在行っている同基準の改定の検討に関する以下の説明を受けた。

百日ぜきワクチンの不活化百日ぜき毒素のマウスヒスタミン増感試験をHPLCに置き換える検討。

狂犬病ワクチンの抗原量を量る試験について、培養細胞を用いる方法に置き換える検討

ポリオワクチンのポテンシーについて、D antigen ELISAを利用する方法に置き換える検討

B型肝炎ワクチンの抗原量の測定について、マウスに接種して出てくる抗体を抑制する方法、直接抗原量を量る方法に置き換える検討

日本脳炎ワクチンの力価測定として、抗原ELISA法によるウイルス抗原定量法の検討

第2回目の会議では、始めに代表研究者である石井プロジェクトリーダーよりWHOで感染症に絞ったアジュバント入りワクチンが作成され、それを和訳し基にして、「感染症に対するアジュバント添加ワクチンの非臨床試験ガイドライン(草案)」(ガイドライン案として平成27年度に公開予定)を作成したことが説明された。また、本ガイドライン(案)作成にあたり作成時の検討事項の説明、及び本ガイドラインを今後検討するにあたり必要な検討項目の説明及び検討が行われた。

II 分担研究報告書

生物学的製剤基準の在り方に関する研究

研究分担者

国立感染症研究所 品質保証・管理部 加藤 篤

研究協力者

国立感染症研究所 品質保証・管理部 落合雅樹

国立感染症研究所 ウイルス第一部 林 昌宏

国立感染症研究所 ウイルス第二部 石井孝司

わが国では、生物学的製剤の多くは医薬品医療機器等法(旧薬事法)により特別に定められた医薬品として必要な基準が設けられ、厚生労働大臣の指定する者の検定(国家検定)を受けなければ市場に出す事ができない。ワクチンはこのような生物学的製剤の一つであり、設けられた基準が生物学的製剤基準である。このようなシステムは、国により異なり、薬局方にワクチンの規格基準内容を記載している国もある。日本薬局方は5年に一度改正が行われるが、生物学的製剤基準の改正は、従来から必要に応じて適宜行なわれる不定期なものである。一方、生物学的製剤は、その特性から培養細胞、動物を用いた多くの試験が存在する。こうした試験法は、物理化学試験に比べて試験結果にばらつきが大きく、試験の判定には十分な時間を必要としている。近年、GMPの導入等によりワクチンの品質管理、製造工程が充実し、品質が安定する傾向にある。そのため、生物を使った試験から物理化学試験に置き換えて品質の一貫性を評価するだけでも十分であるという考え方も出てきている。本研究班では、国際的な観点から生物学的製剤基準を考え、狂犬病ワクチン、百日せきワクチン、B型肝炎ワクチンの試験において動物代替試験法の検討をした。

A. 研究目的

ワクチン、抗毒素および血液製剤は保健衛生上特別の注意を要する医薬品として、医薬品医療機器等法（旧薬事法）第42条及び43条により生物学的製剤基準と検定基準が設けられ、ロットごとに行われる国家検定に合格しなければ市場に出す事ができない。生物学的製剤基準には、ワクチンの製法、性状、品質、貯法が書かれ、品質確認試験方法もこの中に含まれる。このような体系のため、ワクチンの製造販売承認審査と生物学的製剤基準の作成は同時に行われる。承認後に生物学的製剤基準に書かれた品質確認試験法の中から国家検定項目が選ばれ、生物学的製剤基準と共に検定基準として告示される。このようなシステムは、

国により異なり、薬局方にワクチンの規格基準内容を記載している国もある。

わが国は、国際的な医薬品の品質管理手順に対応するため GMP (Good Manufacturing Practice: 適正製造規範)を医薬品の製造現場に段階的に進め、加えて2014年には、このGMPをさらに国際的なレベルに上げて拡充させるために PIC/S (Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme: 医薬品 GMP 調査協力の枠組み)への加盟を果たした。この加盟は ISO10725 相当の品質管理システム(QMS)を GMP 調査と公的医薬品試験機関に求め、GMP 調査と品質確認のレベルの底上げを図るものである。一方、これとは別に、WHO(世界保健機関)が定めた

“ワクチンを市場に出す手順に関するガイドライン”に従い、わが国は 2012 年 10 月から SLP (Summary lot protocol: 製造と試験記録等の要約書) 審査を国家検定制度の中に組み入れた。この様に国際的な体裁は整いつつあり、今後はより細かい部分での世界標準化、たとえば標準品の共通化など「品質管理手法」の国際化が進むものと思われる。従来不定期的に生物学的製剤基準の見直しが行われてきたが、これらの医薬品を取り巻く環境の変化は今までに無く大きなもので、これらの変化に対応した生物学的製剤基及び国家検定基準の在り方、記載内容の見直しが求められている。

本研究班では今年度、WHO(世界保健機構)、特にわが国が属する西太平洋事務局(WPRO)と協力し、中国、韓国といった最もわが国に身近な国々の規制と我が国の規制とを比較し、規格が異なる場合には製剤の安全性と有効性の管理制度的に意味のある差なのか否かを検討し、科学的に合理的な生物学的製剤の姿を提案することを計画した。分担研究者と研究協力者とでワーキンググループを組織し、今年度は、主に動物実験代替試験法に関する検討を重ねた。

B. 材料と方法

中国、韓国のワクチン規制当局関係者とのシンポジウム

2012 年、国立感染症研究所は中国の国家医薬検定院の李所長の招きにより、北京で開かれた日中のワクチンに係るシンポジウムに参加した。その後、今回は日本で開催が決められたまま、進展しないうちに、2014 年 3 月に WHO が世界 7 カ国にある生物学的製剤の標準品と標準規格に関する共同研究センター (WHO-cc on standardization and evaluation of biologicals) の会議をドイツのランゲンで開催し、その時に中国の担当者と直接話しをして、WHO-cc 間協

力という形で、第二回シンポジウムを 2015 年 3 月に東京で開催することが決定した。また、韓国もこのときに参加を希望し、日中韓となることが決定した。シンポジウムを 3 つのセッションで構成し、1 つめのセッションは日中韓のワクチンの規制について互いに理解し合う場に、2 つめはワクチンの開発を目指した研究の進捗状況、3 つめはワクチンの品質規格試験の代替試験法の進捗状況についてとした。

動物を用いた日本脳炎ワクチン力価試験代替法に関する研究

抗日本脳炎ウイルスモノクローナル抗体 (Group8, #503) を固層化したプレートに、A 社および B 社から購入した細胞培養日本脳炎ワクチンを無希釈から 2 倍階段希釈で 64 倍まで希釈し、37 にて 1 時間インキュベートした。プレートを洗浄後に、ペルオキシダーゼ標識抗フラビウイルスモノクローナル抗体 (6B6C) をいれ、室温にて 30 分間インキュベートした。再びプレートを洗浄後、TMB 発色溶液を各ウェルに入れて反応させた。反応を 1 N 硫酸液にて停止させた後、吸光度測定機にて Optical Density (OD) を測定した。

同様に購入した日本脳炎ワクチンを生物学的製剤基準に従い力価試験を実施した。日本脳炎ワクチンを 2 倍階段希釈で 16 倍まで希釈し、4 希釈を 1 群 11 匹の 4 週令のマウスに 1 匹あたり 0.5mL を腹腔内接種した。参照ワクチンも同様に希釈して接種した。初回接種 1 週間後に、2 回目を同様に腹腔内接種した。さらに 1 週間後に、心臓採血し、1 群の血清を等量混合し 1 つにまとめた後、日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価を測定した。

狂犬病ワクチン不活化確認試験代替法に関する研究

狂犬病ワクチンの不活化確認試験は生物学的製剤基準に従い、A 社より購入した狂犬病不活化ワクチンを生後 4 日以内の乳のみマウス 30 匹以上に、1 匹当たり、0.02mL 脳内に注射して 21 日間観察した。この間、乳のみマウスに狂犬病固定毒の感染死又は感染症状を認めるかを観察した。

培養細胞法では、マウス神経芽種 Neuro-2a をプレートで培養し、細胞がシートになった段階でワクチン原液を 0.02 ml で細胞に接種した。3 日間培養後、新たらしい Neuro-2a 細胞をプレート培養上清を 0.05 ml 接種し、さらに 3 日間培養した。培養細胞を固定後、蛍光標識した抗狂犬病ウイルス抗体で細胞を染色し、蛍光顕微鏡で蛍光像を観察した。

百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験代替法に関する研究

百人せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験は生物学的製剤基準に従って行った。A 社の百日せきワクチンを購入ならびに、A 社の原液の一部の提供を受け、試験に供した。4 週齢のマウス 10 匹以上を 1 群とし、ワクチン検体及び毒性参照品の各希釈を 1 匹当たり 0.5mL 腹腔内に注射した。初回注射の 4 日後に 1 匹当たり二塩酸ヒスタミン 4mg を腹腔内に注射し、その 30 分後にマウスの直腸内体温を測定した。物理化学的方法では、百日せき毒素の A サブユニットの ADP リボシル化酵素活性については、蛍光標識した Gi₃C20 ペプチドを基質として検体と反応させ、ADP リボシル化したペプチドを HPLC 法にて測定した。また、百日せき毒素の B サブユニットの細胞結合活性については、糖タンパク質 (Fetuin) を固相化したプレートと反応させ、結合量を抗 B サブユニット抗体、酵素標識抗 IgG を使った ELISA によって測定した。これに加えて CHO 細胞を使ったクロッチング検査を検討した。

B 型肝炎ワクチンの力価試験代替法の検討

B 型肝炎ワクチンは現在 2 社から販売されている。どちらも力価は、マウスにワクチンを接種後、5 週後に産生される抗体量を抗体検出 ELISA で測定して基準値以上の場合を適合にしている。1 つのロットで 128 匹のマウスを使用する試験である。そこで、A 社及び B 社のワクチンを購入し、1 つは生物学的製剤基準に従いマウスを免疫し、その抗体値をもって力値とした。もう一方はワクチンに含まれるそれぞれ抗原量を、抗原補足 ELISA で測定し、抗原含量が力価試験に代わるものと使えるかを検討した。

C. 結果

日本脳炎ワクチン ELISA 法と力価試験:

抗原検出 ELISA はワクチン原液を無希釈から 2 倍階段で 64 倍まで希釈し、抗原量を測定した。その結果 OD 値は希釈に相関して容量依存的に減少した。測定した OD 値を平行線定量法により標準品と相対抗原量価を算出した。本方法によるデータの均一性は高く、原液が同じであればロット間のぶれは非常に小さいことが確認された。従来法である生物学的製剤基準に従って測定した力価試験による相対力価（中和抗体力価）と抗原 ELISA 法による相対抗原量価は比較的良好な相関関係を示した。しかし、製造販売業者が A 社および B 社で異なると、両者を同じグラフにプロットしたときに値が大きく外れ、平行線定量法に関して信頼性に注意すべき解析結果となった。

WHO は英国の NIBSC を中心に日本脳炎ワクチンの新たな標準品作成のための国際共同試験を開始し、感染研もその共同研究に参加を希望した。今後新たに制定される標準品がこの ELISA でどのような値を出すのか検討を行う予定

にしている。

狂犬病ワクチン不活化確認試験：

生物学的製剤基準に従いマウスを使った狂犬病ワクチンの不活化確認試験に適合した検体をマウス神経芽腫由来 Neuro-2 細胞に接種しても狂犬病ウイルス抗原は観察されない。そこで、狂犬病ワクチンに任意の割合で既知の量の生きた狂犬病ウイルスを混ぜ、神経芽腫由来 Neuro-2 細胞に接種し、*in vivo* のマウス接種試験と感度を比較した。Neuro-2 細胞で抗原陽性になる混合ウイルス量はマウス接種で陽性になるよりも少ない量であり、培養細胞の方がマウスよりも検出感度が高いことが示された。また、検出までのかかる日数も短縮された。

百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験：

マウスヒスタミン増感試験はマウスにワクチン検体あるいは毒性参照品を接種し、マウスの直腸内体温を測定する方法である。一方、物理化学的方法として百日せき毒素の A サブユニットの ADP リボシル化酵素活性と B サブユニットの細胞結合活性がある。この二つの活性は、不活化処理により大きく減少するものの完全に消失するわけではなく残存活性が認められる。この残存活性は、ワクチンの不活化をホルマリンで行うかグルタルアルデヒドで行うか、あるいは、共雑物質の量にも影響を受けるため、百日せきワクチンの製造販売業者毎に固有の特性を持っていた。

B 型肝炎ワクチンの含量確認試験：

B 型肝炎ワクチンは、遺伝子組み換え技術を応用して作製した HBs 抗原にアジュバントを加えたワクチンとして現在二社から国内販売されている。生物学的製剤基準により、どちらの力価試験も

マウスに検体を接種し、その後の抗体価の上昇を抗体量検出 ELISA で行っている。一つの試験で、128 匹のマウスを使い、動物の馴化期間を含めると 5 週間を要する試験である。この製剤について二つの ELISA 法が適応できるか検討した。アジュバント含有ワクチンであるため、アジュバント除去後の HBs 抗原を検出する抗原検出 ELISA と、中和抗体とワクチンを反応させ、残った中和抗体から抗原量を測定する Inhibition ELISA の二つを検討した。どちらの方法も 2 日間で結果が出せ、製造販売会社に固有に参照品で価付けを行うと、相関性の高い結果が得られた。ロットごとの抗原量の一貫性を保証する結果を出すことができた。メーカー毎に適切な標準品を作成できれば、それとの比較において判断が可能である事が判った。しかし、定量性といった問題を解決するには、測定範囲の拡大と直線性を確認しなければならず、それは今後の課題として残った。

日本、中国、韓国のシンポジウム開催：

2015 年 3 月 2-3 日に中国の National Institutes for Food and Drug Control (NIFDC) の担当者 3 名、韓国 *Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), National Institute of Food and Drug Safety Evaluation (NIFDS)* の担当者 3 名が集まり国立感染研究所でワクチン研究と品質管理試験に関するシンポジウムを開催した(資料)。それぞれの国のワクチンの品質管理の概要説明から、韓国は日本と同様に生物学的製剤基準を設け、この基準をもとにワクチンを規制しているが、中国は局方の中に規格や試験法を定めていることが判った。

インフルエンザワクチンは他のワクチンと異なり、通常は毎シーズン毎にワクチン株を新たに制定する。そして、その都度、標準抗原、標準抗血清を作成し規格の統一を図っている。この一方で、

A 型 H5 亜型の様な病原性の高いトリインフルエンザウイルスがヒトの世界で流行が懸念されており、それらに備えた準備もワクチンの準備も進められている。ところで、どのような株がヒトの世界で流行するのか判らない状況では、ワクチンの規格に必要な標準抗原、標準血清をあらかじめ準備しておくことは不可能であり、流行が始まってから作成するのは、迅速なワクチンの市場投入ができないと危惧されている。そこで、インフルエンザウイルスのワクチンの主成分である HA 抗原量を物理科学的に測定し、それを持って品質規格とするという試みもされている。実際、中国では A 型 H7N9 インフルエンザワクチンを開発を進めており、従来の標準抗原、標準抗血清を使った方法と、HA 含量を使った方法を比較し、相関性が高いという結果を報告した。

日本脳炎は、東南アジアを中心に流行している蚊を媒介とするウイルス性疾患である。従来、日本脳炎ワクチンは、適当に希釈したワクチンをマウスに接種した後、その血清を集めて日本脳炎ウイルスに体する中和ウイルス抗体価の誘導量で評価してきた。しかし、これには多くの動物と時間を有するために ELISA による抗原測定量に置き換える作業を進めている事が報告された。ワクチンに熱を加えた劣化試験を行い、それを樹来のマウスを用いた評価方法と、ELISA を用いた抗原検出法で比較すると両者の相関性が高いことが報告された。WHO で進められている日本脳炎ワクチン標準品の作成の国際共同研究のなかに韓国も加わって開発中の方法を、各国で試すことが実証への早道と思われた。

D. 考 察

日本脳炎ワクチン力価試験代替法について：

日本脳炎ワクチンの力価試験は、生物学的製剤基準に従いマウスにワクチンを 2 回免疫し、その中和抗体力価を参照品と比較することによって判定している。本方法は、動物（マウス）を用いる評価方法であり、一定の範囲内で必ず結果にバラツキが生じる試験である。そのため試験結果に許容範囲が設定されている。一方、抗原 ELISA 法によるウイルス抗原定量はバラツキが少なく、結果が一定の範囲内に収まる試験である。ワクチン力価と抗原量は異なる概念であり、まったく同一であると考えすることはできない。従って、たとえば最初の 1 ロットについて力価試験を実施し、それに続くその他のロットに関してはウイルス抗原量を比較し、「同量であることを確認する」ことを持って「適」とすることを考慮してもよいと考えられる。

狂犬病ワクチン不活化確認試験について：

狂犬病不活化ワクチンの不活化確認試験は、生物学的製剤基準に従いマウスに検体を接種して、マウスに狂犬病様症状が出ないことで判定している。しかし、この試験は、乳のみマウスを実験に使うことから、母マウスの授乳放棄等の試験実施上の課題があるのに加えて、一定の範囲内で必ず結果にバラツキが生じる試験である。そこで狂犬病ウイルスに感受性の高いマウス神経芽腫由来 Neuro-2 細胞を使って、狂犬病ウイルス抗原陽性になるか否かを持って不活化が十分か否かを判定する方法を構築した。この方法は、感度が高いうえにバラツキが少なく、将来の生物学的製剤基準の改定に向けた取り組みを日本だけでなく国際的に進め、国際規格にすることが望ましいと考えられた。

百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験：

マウスヒスタミン増感試験は、生物学的製剤基準に従いマウスに検体を接種し、マウスの直腸内体温が上昇しないことを確認することで判定している。この試験では、検体の加温に4週間、試験そのものの実施に1週間と最低でも5～6週間以上の試験期間を要する試験である。百日せき毒素のAサブユニットのADPリボシル化酵素活性とBサブユニットの細胞結合活性は、百日せきワクチンの製造方法、特に不活化方法によって製品に特徴的な活性の減少がある。原液が同一の小分け製品であれば、たとえば最初の1ロットあるいは原液についてマウスヒスタミン増感試験を実施し、最初の1ロットに続くその他のロット、あるいは同じ原液から派生する小分け製品にはAサブユニットのADPリボシル化酵素活性とBサブユニットの細胞結合活性を比較し、”同量であることを確認する”ことを持って「適」とすることも考えられる。一方、同じ様に動物代替試験を検討している中国からはCHO細胞を使った試験法が紹介され、物理化学試験の結果との相関性が高いことが示された。物理化学試験への完全移行を考えるのもよいが、残存する酵素活性、細胞結合活性をどこまで許容するのかといった問題を考えると、CHO細胞を使う生物学的アッセイ方法の採用も考慮に値すると考えられた。

E. 結 語

生物学的製剤基準は、製造販売承認申請時に作成され、ワクチン、抗毒素、血液製剤の製法、試験方法と品質規格、貯法等が記載されている。一般的に承認後も、企業努力により見直しが行われるが、生物学的製剤基準の改定のタイミングは、企業側で決められず承認事項のなかでも生物学的製剤に書かれている内容部分の変更は、非常に実行し難い。そのため、わが国では欧米に比べて特に動物

を使った規格試験の代替法の開発が遅れているとの指摘がある。今回、わが国の隣国である、中国、韓国のワクチン規制当局関係者とシンポジウムを行い、互いの現状を紹介する場を持った。規制当局間で国民の健康を守る為に安心して安全なワクチンを供給するという共通認識を持つ事ができた。今後はより具体的にそれらのやり方について議論し、国際標準となるように努力すべきであるという点で一致した。

日本、中国、韓国共通のものとして、百日せきワクチンのADPリボシル化酵素活性および細胞結合、あるいはCHO細胞アッセイを用いた動物代替試験法の開発、わが国及び韓国では、細胞培養日本脳炎ワクチンの抗原定量ELISA法、中国および韓国ではインフルエンザワクチンのHA含量測定法が検討されており、わが国独自のものとしては、培養細胞を用いた狂犬病ワクチン不活化確認試験があり、シンポジウムを継続して、これらの試験法を国際的なものにしていくことが大事である。

F. 健康危害情報

無し

G. 研究発表

- 1) Takayama-Ito M, Nakamichi K., Kinoshita H, Kakiuchi, S, Kurane I, Saijyo M, Lim C-K. A Sensitive in vitro assay for the detection of residual rabies virus in inactivated rabies vaccines. *Biologicals*, 42: 42-47 (2014)
- 2) Ochiai M., Horiuchi Y., Yuen CT., Asokanathan C., Yamamoto A., Okada K., Kataoka M., Markey K., Corbel M., Xing D. Investigation in a murine model of possible mechanisms of enhanced local reactions to post-primary diphtheria-tetanus toxoid boosters in recipients of acellular pertussis-diphtheria-tetanus vaccine. *Hum Vaccin Immunother.* 10: 2074-2080 (2014)

- | | |
|-------------------------|--------|
| 3) | 無し |
| H. 知的財産権の出願・登録状況 | 3. その他 |
| 1. 特許取得 | |
| 無し | |
| 2. 実用新案登録 | |

2nd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines

Tokyo, Japan, 2-3 March 2015

Conference Room, NIID

Co-organized by

National Institute of Infectious Diseases (NIID), Japan

National Institutes for Food and Drug Control (NIFDC), China

National Institute of Food and Drug Safety Evaluation (NIFDS), Korea



NATIONAL INSTITUTE OF
FOOD AND DRUG SAFETY EVALUATION



Agenda

DAY-1 (Monday, 2 March)

15:00

Opening

- **Opening remarks by the Director General of NIID, Dr. Haruo Watanabe**
- **Comments from WHO HQ and WPRO (by WebEx)**
- **Self-introduction**
- **Group photo**

15:30-17:00 *For The Mutual Understandings*

Session 1. Vaccine Lot Release System of China, Korea and Japan.

Chair: Dr. Ichiro Kurane (NIID)

Vice-Chair: Dr. Junzhi Wang (NIFDC)

- 1.1 “Brief introduction of vaccine lot release system in Japan”
Dr. Masaki Ochiai (NIID)
- 1.2 “Brief introduction of vaccine lot release system in China”
Dr Miao Xu, (NIFDC)
- 1.3 “Brief introduction of vaccine lot release system in Korea”
Dr. Hyejoo Chung (NIFDS)

18:30-20:30

Welcome reception.

DAY-2 (Tuesday, 3 March)

9:00-10:30 *New Approaches For New Vaccines I*

Session 2a. Researches on Vaccines

Chair: Dr. Junzhi Wang (NIFDC)

Vice-Chair: Dr. Sangja Ban (NIFDS)

- 2.1 “Development of recombinant infectious norovirus”
Dr. Kazuhiko Katayama (NIID)
- 2.2 “Development of research on regulatory science of new viral vaccines (H7N9, Eobla)”
Dr. Junzhi Wang (NIFDC)
- 2.3 “Study on standardization of vaccine immunogenicity test method in Korea ”
Dr. Sangja Ban (NIFDS)

10:30-10:45

COFFEE BREAK

Agenda

10:45-12:15 *New Approaches For New Vaccines II*

Session 2b. Researches on Vaccines *(continued)*

Chair: Dr. Junzhi Wang (NIFDC)

Vice-Chair: Dr. Sangja Ban (NIFDS)

2.4 “The host cellular receptors for EV71”.

Dr. Hiroyuki Shimizu (NIID)

2.5 “Development of EV71 vaccine”

Dr. Zhenglun Liang (NIFDC)

2.6 “Development of HA antigen standard for pandemic influenza vaccine”

Dr. Ho Jung Oh (NIFDS)

12:15-13:15

LUNCH BREAK

13:15-15:00 *New Methods/Tools For Standardization of Vaccines*

Session 3. Alternative Methods for the Quality Control of Vaccines

Chair: Korea Dr. Sangja Ban (NIFDS)

Vice-Chair: Dr. Ichiro Kurane (NIID)

3.1 “A sensitive *in vitro* assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines”.

Dr. Mutsuyo Takayama-Ito (NIID)

3.2 “Alternative methods for toxicity test of DTaP vaccine and potency of rabies vaccine”

Dr. Miao Xu (NIFDC)

3.3 “Alternative method for potency assay of Japanese encephalitis vaccine (inactivated)”

Dr. Ho Jung Oh (NIFDS)

15:00

Closing

- **Closing remarks by the Director General of NIID, Dr. Haruo Watanabe**

15:15-16:00

OPTIONAL

Introduction of NIID, and lab tour

Symposium Participants List

National Institutes for Food and Drug Control (NIFDC)

No. 2 Tian Tan Xi Li, Dongcheng District, Beijing, 100050, P. R. China

Dr. Junzhi Wang, 王军志
<wangjz@nifdc.org.cn>
Deputy Director General

Dr. Miao Xu, 徐苗 <xumiaobj@126.com>
Deputy Director
Institute for Biological Product Control

Dr. Zhenglun Liang, 梁争论
<lzhenglun@126.com>
Head of Hepatitis Virus Vaccines Division
Institute for Biological Product Control

Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) National Institute of Food and Drug Safety Evaluation (NIFDS) 187 Osongsaengmyeong 2-ro, Osong-eup, Heungdoek-gu cheongju-si, Chungcheongbuk-do, 363-700, Korea

Dr. Sangja Ban,
반상자 <sjban@korea.kr>
Director
Biologics Research Division

Dr. Hyejoo Chung,
정혜주 <hjchung58@korea.kr>
Director
National Center for Lot Release

Dr. Ho Jung Oh,
오호정 <ohojung@korea.kr>
Team Leader
National Center for Lot Release

Food and Drug Administration Civic Drive, Filinvest Corporate City Alabang, Muntinlupa, Philippine

Ms. Mary Grace E. Gabayoyo,
<mgegabayoyo@fda.gov.ph>
Food Drug Regulation Officer III

National Institute of Infectious Diseases (NIID) 1-23-1 Toyama Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

Dr. Haruo Watanabe, 渡邊治雄
<haruwata@niid.go.jp>
Director General,

Dr. Ichiro Kurane, 倉根一郎
<kurane@niid.go.jp>
Deputy Director General,

Dr. Atsushi Kato, 加藤篤
<akato@niid.go.jp>
Director
Department of Quality Assurance and
Radiological Protection,

Dr. Masaki Ochiai, 落合雅樹
<masakio@niid.go.jp>
Chief
Department of Quality Assurance and
Radiological Protection

Dr. Kazuhiko Katayama, 片山和彦
<katayama@niid.go.jp>
Chief,
Department of Virology II

Dr. Hiroyuki Shimizu, 清水博之
<hshimizu@niid.go.jp>
Chief
Department of Virology II

Dr. Mutsuyo Takayama-Ito, 伊藤陸代
<mutsuito@nid.go.jp>
Senior Researcher
Department of Virology I

Dr. Seishiro Naitoi, 内藤誠之郎
<snaito@niid.go.jp>
Senior Researcher
Department of Quality Assurance and
Radiological Protection

Dr. Kentaro Fujita, 藤田賢太郎
<fujiken@niid.go.jp>
Senior Researcher

Presentation Abstract

S1.1 Brief introduction of vaccine lot release system in Japan

Masaki Ochiai (NIID)

The National Institute of Infectious Diseases (NIID), formerly named as National Institute of Health, was established in 1947 as an official research institute attached to the Ministry of Health and Welfare for conducting lot release of biological products including vaccines, and for studying them. At that time, there were a lot of biologicals which did not pass the national test mainly due to the sterile issue. These failed lots had gradually decreased corresponding to the improvement of pharmaceutical jurisprudence such as the implementation of GMP as the Ministerial ordinance in 1980. The decision whether biological products passed or not the lot release has been in principle based on the results from tests alone performed by the NIID for a long time, and manufacturer's in-house test results were just handled as a reference. Therefore, a limitation to ensure the quality of vaccines only by testing was pointed out by the WHO assessor in 2004. According to the international lot release guideline for vaccines, we started to reconsider the Japanese lot release system and steered to put more importance on reviewing the manufacturer's batch records to obtain the significant information in terms of the traceability of critical source materials, active and critical components used in the manufacture of the product, as well as to obtain the results from tests performed by the manufacturer at various stages of production. Thus, protocol review for vaccines was newly implemented in the Japanese lot release system in addition to the independent testing by the NIID in October 2012, and is being used to ensure whether the lot meets the specifications and control criteria described in the marketing authorization dossier.

Presentation Abstract

S1.2 Brief introduction of vaccine lot release system in China

Miao Xu (NIFDC)

China is a big country of vaccine production and use, there is about 40 vaccine manufactures to produce nearly 50 kinds of vaccines. In the recent 6 years, there are almost 5000 batches of vaccine released in China per year. To ensure the safety and efficacy of vaccine, lot release plays an important role.

Vaccine lot release have been implemented gradually in China. Began with the 5 EPI vaccine lot release since 2001, launched with all vaccines in China in 2006. Through years of exploration and improvement, China has a complete legal system based on relevant laws, regulations and regulatory requirements to implement and enforce vaccine lot release.

In China, the CFDA is in charge of lot release of biological nationwide and shall designate institutes to undertake lot release of biological products. NIFDC is responsible for implementation the lot release of biological products, including the test and documents review, as well as technical training and guidance to the provincial institutes for lot release. Since October 2013, Shanghai Institute has been authorized for the lot release of flu vaccines within the jurisdiction.

The lot release system has been established strictly according to the WHO guidelines and keep continuously improvement. China NRA passed WHO NRA evaluation in 2011 and the WHO NRA re-evaluation in 2014.

Presentation Abstract

S1.3 Brief introduction of vaccine lot release system in Korea

Hyejoo Chung (NIFDS)

The quality of biologics such as vaccines has been carefully monitored before being released for sale in Korea. National Center for Lot Release (NCLR) of NIFDS, a division which is responsible for national lot release, performs quality testing in the final product, and also reviews the manufacturing process, in-process control and quality control records from raw materials to final product in every lot. In some cases, tests can be exempted according to the “Regulation for designation, approval process, and method of pharmaceuticals for national lot release”. The LIMS (Laboratory Information Management System) is operated for data management, which is computer system designed to capture, analyze, report and manage the data and information via database. We also carry out trend analysis using LIMS. It has been implemented at our center since June, 2003. Raw data created by laboratory equipments are stored in LIMS automatically through LAS (laboratory automation system), however, some data can be inputted semi-automatically. When all the results are met criteria, then Director General of NIFDS issues the Product Release Certificate. To improve our reliability for national lot release, quality assurance system was introduced in 2003. For this, we are developing SOP, validating equipments and facility, maintaining the status of ISO 17025, international quality system for testing, and establishing the Korean National Biological Reference Standards continuously. NIFDS is cooperating actively with WHO in various ways. NIFDS was designated as a WHO collaborating center in 2011 as the 5th center. As terms of reference, we are operating the training program (The Vaccine Hands-on Training), and performing technical services as a WHO contracting laboratory for PQ vaccines. We had finished the 3rd training program in last November successfully. We expect for designation of our center as a WHO GLO/VQ in lot release area.

Presentation Abstract

S2.1 Reverse genetics system of Human and Murine Norovirus

Kazuhiko Katayama^{*1,2}, Reiko Takai-Todaka², Akira Nakanishi³, Kosuke Murakami^{1,2}, Tomoichiro Oka², Susana Guix¹, Tyler M. Sharp¹, Robert L. Atmar¹, Sue E. Crawford¹, and Mary K. Estes¹

**Speaker. ¹Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA; ²National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan; ³National Center for Geriatrics and Gerontology, Dept. Aging Intervention, Sec. Gene Therapy, Aichi, Japan.*

Human norovirus (HuNoV) are the leading cause of gastroenteritis worldwide. Replication studies on HuNoV have been hampered due to its inability to grow in conventional cell cultures. We have developed a plasmid-based HuNoV reverse genetic system that can produce viral particles containing packaged infectious genomic RNA with an inserted GFP gene. However, it was not possible to examine the infectivity of these viral particles because of the lack of susceptible cell-lines for HuNoV. To evaluate the validity of this system, we asked if this system could produce infectious particles using the cDNA of other related viruses where permissive cell-lines are available, such as the murine norovirus (MNV). A construct harboring a full-length cDNA of the MNV S7 strain carrying a non-viral EF-1 alpha promoter and hepatitis D virus ribozyme was transfected into HEK293T cells, and the culture supernatant was used to infect mouse leukaemic monocyte macrophage cell line (RAW 264.7) in order to examine the presence of infectious MNV. MNV nonstructural protein expression was analyzed using immunofluorescence (IF), fluorescence microscopy (FM) and Western blotting (WB). The viral protease cleavage of the nonstructural ORF1 polyprotein was observed by WB and IF. Six non-structural proteins close to the predicted sizes were detected, which suggested they were not truncated and all six nonstructural proteins were functional. Progeny MNV produced from our reverse genetics system was marked by mutations or by an introduced reporter gene such as GFP. The progeny virus was infectious in RAW264.7 cells. These results suggest that our plasmid based reverse genetics systems are simple and effective in evaluating the functions of the viral sequences, proteins, and phenotypic characterization of MNV and HuNoV strains. The non-viral promoter used in this system is the key for generating HuNoV infectious clones efficiently, and this plasmid based reverse genetics system for MNV and HuNoV does not require a helper virus. This is the first report of establishing a complete reverse genetics system expressed from cDNA for MNV and HuNoV that allows manipulation of the viral genome, and production of infectious reporter virions.

Presentation Abstract

S2.2 Development of research on regulatory science of new viral vaccines(H7N9, Ebola)

Junzhi Wang (NIFDC)

Regulatory science aims to contribute to the development of new tools, standards, and approaches to assess the safety, efficacy, quality, and performance of regulated products. NIFDC devotes herself to applying regulatory science into the R&D of new vaccines, by cooperating closely with vaccine manufacturers and other relative institutes for filling the gaps to accelerate R&D of new vaccines, especially during dealing with the emergency. For example, during the 2009 H1N1 pandemic, NIFDC developed alternative detection methods and national references which served as the key indicator of vaccine quality control and succeeded making outstanding contribution to accelerate the development of H1N1 vaccine in China. Similarly, during the 2013 H7N9 pandemic, NIFDC has developed H7N9 anti-serum references and H7N9 antigen references promptly, which was very helpful to promote the development of H7N9 vaccines. Recently, NIFDC is cooperating with entities on the quality control of Ebola vaccines, which is expected to promote the development of such a new kind of viral vaccine. The above examples demonstrate that scientific regulation plays an important role in the development of new vaccines.

Presentation Abstract

S2.3 Research on the Standardization of Vaccine Immunogenicity Evaluation Assays in Korea

Sangja Ban (NIFDS)

Clinical development of vaccines requires specific assays to demonstrate the immunogenicity of the vaccine. These assays should measure the immune responses that correlate with protection against diseases such as antibody titers for neutralization of viruses or opsonization of bacteria and etc. Validation of these assays is required per regulatory guidelines.

In Korea, vaccine evaluation projects were performed from 2006 led by NIFDS including immunogenicity, safety and efficacy of vaccines, sero-prevalence of vaccine preventable diseases and establishment and validation of immunogenicity assays for 12 kinds of vaccines. In the establishment and validation of vaccine evaluation assays, *Haemophilus influenzae* type b (Hib) vaccine and pneumococcal vaccines were targeted with the funding from NIFDS.

Hib was one of the most common cause of bacterial meningitis in Korean children prior to the vaccine. After Hib vaccination, Hib meningitis became rare. To maintain such success, Hib vaccination should be implemented continuously. ELISA for detecting anti-PRP antibody level and serum bactericidal assay (SBA) for measuring antibody function were established and evaluated along with assay specificity, sensitivity and precision at the Ewha Center for Vaccine Evaluation Study (ECVES) in Ewha Womans University School of Medicine, Seoul, Korea. With such success, newly developed Hib vaccine (EuHib™, LG Life Sciences, Republic of Korea) and Hib containing combination vaccine (Euforvac-Hib™, LG Life Sciences, Republic of Korea) could be evaluated and finally licensed in the Republic of Korea and considered satisfactory as WHO pre-qualified vaccine.

Streptococcus pneumoniae is a major human pathogen responsible for the majority of bacterial pneumonia as well as invasive pneumococcal diseases. Use of conjugate vaccines has dramatically reduced the incidence of invasive diseases, and there are active efforts to further improve the conjugate vaccines. To evaluate pneumococcal vaccines, ELISA and opsonophagocytosis assay (OPA) were developed. 3rd generation ELISA to quantify the level of circulating antibodies to pneumococcal capsular polysaccharide were established for 13 serotypes. OPA has been developed to overcome the limitations of the ELISA method, a bioassay measuring the capacity of antibodies to opsonize pneumococci. OPA is preferred method for estimating antibody function. Moreover, OPA was established with multiplexed method at the WHO reference laboratories at the University of Alabama at Birmingham. These third-generation ELISA and multiplexed OPA has been established and evaluated for assay specificity, sensitivity and precision at the ECVES with funding from NIFDS, as well. With these efforts, ECVES has participated in the working group to establish the serotype-specific opsonic titers for the new reference serum, 007sp by the US FDA, to validate its performance as a standard, and to reassign values to 13 pneumococcal serotypes. Moreover, from this year, the efforts to establish the standard methods for vaccine immunogenicity evaluation will be expanded to establishment of quality control sera for vaccine evaluation. With judicious use, it should be available worldwide for at least more than 10 years.

Presentation Abstract

S2.4 The host cellular receptors for EV71

Hiroyuki Shimizu (NIID)

Enterovirus A (HEV-A) is one of the four species of HEV in the genus *Enterovirus* in the family *Picornaviridae*. Among HEV-A, coxsackievirus A16 (CVA16) and enterovirus 71 (EV71) were the major causative agents of hand, foot, and mouth disease (HFMD). Recently, a growing epidemic of atypical but self-limiting HFMD caused by coxsackievirus A6 (CVA6) has been reported worldwide. Some other types of HEV-A are commonly associated with herpangina. Although HFMD and herpangina due to HEV-A are common febrile diseases in children EV71 can cause various neurological diseases, such as aseptic meningitis and fatal encephalitis mainly in infants and young children. Thus, EV71 infections have caused thousands of deaths in young children, particularly in Western Pacific countries, including Malaysia, Taiwan, China, Cambodia, and Vietnam, posing a serious threat to public health in the region.

Recently, a number of cell-surface molecules have been identified to be involved in the early stage of EV71 infection. By using different materials and technical approaches, our group (Nature Med., 15:287-294, 2009) and Dr Koike and colleagues (Nature Med., 15:798-801, 2009) have identified two human transmembrane proteins, P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) and scavenger receptor class B, member 2 (SCARB2), respectively, as functional receptors for EV71. To elucidate the molecular basis for EV71 interaction with PSGL-1, we used a combination of mutational and structural analysis. We demonstrated that tyrosine sulfation at the N-terminal region of PSGL-1 plays a critical role in the PSGL-1-binding to EV71. On the other hand, an amino acid residue of the capsid protein VP1 of EV71 (VP1-145) controls virus tropism by changing the accessibility of VP1-244 to the sulfated N-terminus of PSGL-1. VP1-145 of EV71 might be responsible for distinct in vitro and in vivo phenotypes of EV71, including the receptor usage. In this regard, I will discuss the involvement of viral and cellular factors in viral replication and pathogenesis in EV71 infection.

Presentation Abstract

S2.5 Development of EV71 vaccine

Zhenglun Liang (NIFDC)

Both EV71 and CA16 are the major pathogens of hand, foot and mouth disease (HFMD), which associated with a wide spectrum of diseases in infants and children under 5 years old, even death. The number of reported HFMD cases in Mainland China was 1,175 million, leading to 3,210 deaths from 2008-2014. Vaccine is the most effective and economic method to prevent infectious diseases. How to ensure the safety, effect and controllable quality in the R&D of new vaccines is a worldwide problem. The project is intent to solve key technical bottlenecks of new vaccines. It carried out selection of vaccine strain, preparation of standard materials, and establishment of animal models and development of quality-control standards, etc. The quality control and evaluation key technical system for the new HFMD vaccines was first established in the world to ensure that the safety, effect and controllable quality of domestic EV71 vaccine, CA16 vaccine and combination vaccine, and to promote the research and development process.

Presentation Abstract

S2.6 Development of HA antigen standard for pandemic influenza vaccine

Ho Jung Oh (NIFDS)

The vaccination is the best way to prevent pandemic influenza. For pandemic influenza vaccine production, WHO recommends new vaccine strain(s) annually because influenza viruses undergo frequent antigenic drift in their surface antigen proteins. The hemagglutinin (HA) of the influenza virus is the major surface antigen inducing protective immune responses, and HA content determination is required for production and quality control of influenza vaccine. The single radial immunodiffusion (SRID) assay is the standard test method for HA content determination and reference reagent is essential for this assay. Reference reagents are developed and supplied by essential regulatory laboratories (ERLs). However, this is very time consuming step for vaccine production and quality control, therefore it is difficult to manage the pandemic outbreak promptly. WHO recommends that national regulatory authorities (NRAs) do some researches to minimize pandemic impact. In order to shorten HA reference reagent production period, we prepared various antigen reagent from different HA subtypes by using recombinant technology and generated 5 HA vectors (H1N1, H5N1, H7N3, H7N9, H9N2) for HA protein production. These HA proteins will be evaluated for SRID assay for vaccine quality control test.

Presentation Abstract

S3.1 A sensitive *in vitro* assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines.

Mutsuyo Takayama-Ito (NIID)

Rabies is a viral disease transmitted through bites from rabid animals and can be prevented by vaccines. Clinically used rabies vaccines are prepared from inactivated rabies viruses grown in cell cultures or embryonated eggs. In Japan and across the world, tests that confirm complete inactivation, such as the *in vivo* suckling mouse assay, in which suckling mice are intracerebrally inoculated with vaccine products, are required for quality control. In this study, we developed a novel cell-based immunofluorescence assay that does not require mice for testing rabies vaccine inactivation for human use. The sensitivity of this cell-based *in vitro* assay was 5.7 times that of the *in vivo* suckling mouse assay, with a detection limit of one focus forming units per ml of test sample. This newly developed *in vitro* assay may replace the established *in vivo* suckling mouse assay for confirming viral vaccine inactivation.

Presentation Abstract

S3.2 Alternative methods for toxicity test of DTaP vaccine and potency of rabies vaccine

Xiao Ma and Miao Xu* (NIFDC)

**Speaker*

NIFDC attaches much importance to the development of alternative methods for vaccines quality control. Here are two examples, including DTaP vaccine and rabies vaccine. Mice Histamine Sensitization Test (HIST), the current method for determining the toxicity of aP is a *in vivo* method with large range of variation. The alternative enzyme-HPLC method has been established by NIFDC, which can make the toxicity test more accurately and conveniently. Another alternative method for pertussis toxicity based on the Chinese hamster ovary cell (CHO) has also been established. By the validation, the precision/ selectivity/specificity of methods are satisfied. The comparison between the current method and alternative methods has been carried out. Rabies vaccine play a key role in the prevention of human rabies, and the NIH methods remains the gold standard for rabies vaccine potency testing. But the NIH methods need too many mice and its Coefficient of Variation is quite high. So the other method is needed urgently. NIFDC is trying to develop the single dilution method and ELISA method for the potency testing.

Presentation Abstract

S3.3 Alternative method for potency assay of Japanese encephalitis vaccine (inactivated)

Ho Jung Oh (NIFDS)

Traditionally, we have performed *in vivo* potency assay as a quality control test for the Japanese encephalitis vaccine. Since ICATM (International Cooperation on Alternative Test Method) has founded, the animal testing has been difficult to be carried out more and more. Therefore, to comply with 3R strategy, NIFDS established *in vitro* potency assay (ELISA) of antigen titer determination for the Japanese encephalitis vaccine using monoclonal antibody. To verify *in vitro* potency assay which can be substituted for the existing *in vivo* potency assay, we performed method validation, comparison test and statistical analysis in multi-site collaborative study. When method validation was done according to the ICH guidelines, *in vitro* potency assay met all acceptance criteria. As results of the collaborative study, *in vitro* potency assay showed it's faster (4 wks → 4 hrs) and easy performance without pre-treatment such as mice immunization. Also it showed better precision and reproducibility compared with the conventional *in vivo* assay. In conclusion, we established alternative *in vitro* potency assay which can be replaced *in vivo* assay requiring many animals and much time for the Japanese encephalitis vaccine.

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
加藤 篤	ウイルス複製の戦略	下遠野邦忠、瀬谷司	生命科学のためのウイルス学	南江堂	東京	2015	273-298

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
Onishi M, Ozasa K, Kobiyama K, Ohata K, Kitano M, Taniguchi K, Homma T, Kobayashi M, Sato A, Kataikai Y, Yasutomi Y, Wijaya E, Igarashi Y, Nakatsu N, Ise W, Inoue T, Yamada H, Vandenberg A, Standley DM, Kurosaki T, Coban C, Aoshi T, Kuroda E, Ishii KJ.	Hydroxypropyl- α -Cyclodextrin Spikes Local Inflammation That Induces Th2 Cell and T Follicular Helper Cell Responses to the Coadministered Antigen.	J Immunol			2015
Koo CX, Kobiyama K, Shen YJ, LeBert N, Ahmad S, Khatoor M, Aoshi T, Gasser S, Ishii KJ.	RNA Polymerase III Regulates Cytosolic RNA:DNA Hybrids and Intracellular MicroRNA Expression	J Biol Chem			2015
Temizoz B, Kuroda E, Ohata K, Jonai N, Ozasa K, Kobiyama K, Aoshi T, Ishii KJ.	TLR9 and STING agonists synergistically induce innate and adaptive type II IFN.	Eur J Immunol			2014

Natsuaki Y, Ega wa G, Nakamizo S, Ono S, Hanakawa S, Okada T, Kusuba N, Otsuka A, Kitoh A, Honda T, Nakajima S, Tsuchiya S, Sugimoto Y, Ishii KJ, Tsutsui H, Yagita H, Iwakura Y, Kubo M, Ng Lg, Hashimoto T, Fuentes J, Guttman-Yassky E, Miyachi Y, Kabashima K.	Perivascular leukocyte clusters are essential for efficient activation of effector T cells in the skin.	Nat Immunol	15(11)	1064-9	2014
Piao Z, Akeda Y, Takeuchi D, Ishii KJ, Ubukata K, Briles DE, Tomono K, Oishi K.	Protective properties of a fusion pneumococcal surface protein A (PspA) vaccine against pneumococcal challenge by five different PspA clades in mice.	Vaccine.	32 (43)	5607-13	2014
Uraki R, Das SC, Hatta M, Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Ozawa M, Coban C, Ishii KJ, Kawaoka Y.	Hemozoin as a novel adjuvant for inactivated whole virion influenza vaccine.	Vaccine.	32 (41)	5295-300	2014
Mizukami T, Mose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhashi K, Ishii KJ, Hamaguchi I, Yamaguchi K.	System vaccinology for the evaluation of influenza vaccine safety by multiplex gene detection of novel biomarkers in a preclinical study and batch release test.	PLoS One.	9(7)	e101835.	2014

Hemmi M, Tachibana M, Tsuzuki S, Shoji M, Sakurai F, Kawabata K, Kobiyama K, Ishii KJ, Akirai S, Mizuguchi H.	The early activation of CD8+ T cells is dependent on type I IFN signaling following intramuscular vaccination of adenovirus vector.	Biomed Res Int.	2014	158128	2014
Yagi M, Bang G, Tougan T, Palacpac NM, Arisue N, Aoshi T, Matsumoto Y, Ishii KJ, Egwang TG, Druilhe P, Hori T.	Protective epitopes of the Plasmodium falciparum SERA5 malaria vaccine reside in intrinsically unstructured N-terminal repetitive sequences.	LoS One.	9(6)	e98460.	2014
Zhao H, Aoshi T, Kawai S, Mori Y, Konishi A, Ozkan M, Fujitani Y, Haseda Y, Shimizu M, Kohyama M, Kobiyama K, Eto K, Nabekura J, Horii T, Ishino T, Yuda M, Hemmi H, Kaisho T, Akira S, Kinoshita M, Tohyama K, Yoshioka Y, Ishii KJ, Coban C.	Olfactory plays a key role in spatiotemporal pathogenesis of cerebral malaria.	Cell Host Microbe.	15(5)	551-63	2014
Onishi M, Kitano M, Taniguchi K, Homma T, Kobayashi M, Sato A, Coban C, Ishii KJ.	Hemozoin is a potent adjuvant for hemagglutinin split vaccine without pyrogenicity in ferrets.	Vaccine.	32(25)	3004-9	2014

Imanishi T, Ishihara C, Badr Mel S, Hashimoto-Tane A, Kimura Y, Kawai T, Takeuchi O, Ishii KJ, Taniguchi S, Noda T, Hirano H, Brombacher F, Barber GN, Akira S, Saito T.	Nucleic acid sensing by T cells initiates Th2 cell differentiation.	Nat Commun.	5	3566	2014
Lam AR, Le Bert N, Ho SS, Shen YJ, Tang ML, Xiong GM, Croxford JL, Koo CX, Ishii KJ, Akira S, Raulet DH, Gasser S.	RAE1 ligands for the NKG2D receptor are regulated by STING-dependent DNA sensor pathways in lymphoma.	Cancer Res.	74(8)	2193-203	2014
Takayama-Ito M, Nakamichi K., Kinoshita H, Kakiuchi, S, Kuranaka I, Saijyo M, Lim C-K.A	Sensitive in vitro assay for the detection of residual rabies virus in inactivated rabies vaccines.	Biologicas	1 42	42-47	2014