

別添1

厚生労働行政推進調査事業費補助金

新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資する  
サーベイランス及びゲノム解析に関する研究

令和3年度 総括・分担研究年度終了報告書

研究代表者 長谷川 秀樹

令和4（2022）年3月31日

## 目 次

<b>I. 総括研究年度終了報告</b>	
新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究 -----	1
長谷川秀樹	
<b>II. 分担研究年度終了報告</b>	
1. 検体からのウイルス分離・増殖効率を改善する細胞株の探索・性状解析 -----	5
渡邊真治	
2. 抗インフルエンザ薬耐性株の発生動向調査ならびに薬剤耐性株検出系の精度管理による危機管理体制の強化 -----	6
高下恵美	
3. A(H1N1)pdm09およびB型インフルエンザウイルスの赤血球凝集阻止試験をもちいた抗原性解析 -----	8
岸田典子	
4. 改良中和試験法を用いたA/H3N2亜型野外流行株の抗原性解析 -----	10
中村一哉	
5. インフルエンザウイルス分離株についての遺伝子解析 -----	13
藤崎誠一郎	
6. 動物由来インフルエンザウイルスのヒトへの感染リスク評価に関する研究 ---	15
白倉雅之	
7. A(H5)亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析 -----	17
高山郁代	
8. 抗原変異が誘導されにくいインフルエンザワクチン株の開発 -----	19
桑原朋子	
9. 成人層および高齢者層に対する2021-22年季節性インフルエンザワクチン接種後の抗体価反応 -----	22
齋藤玲子	
10. 新型コロナウイルス等病原体ゲノム・モニタリングシステムの開発と全国自治体間の情報共有システムの開発 -----	26
黒田誠	
11. 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究 -----	27
竹田誠	
<b>III. 成果の刊行に関する一覧表 -----</b>	<b>31</b>

## 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資する サーベイランス及びゲノム解析に関する研究

研究代表者 長谷川 秀樹

国立感染症研究所・インフルエンザウイルス研究センター・センター長

### 研究要旨

本研究班は、国内およびアジア地域での新型及び季節性インフルエンザウイルス株サーベイランス体制を維持強化し、インフルエンザウイルスの抗原性解析法の改良、ウイルス分離効率の向上、抗ウイルス薬に対する耐性株出現状況の把握、動物種を超えてウイルスが安定定着する遺伝的要因の解析など幅広い研究を行い WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワーク（GISRS）や国内でのインフルエンザ対策やワクチン株選定に有用なデータを示し貢献した。また、新型インフルエンザウイルスの海外発生の継続的な監視および病原体の迅速な入手と解析を継続し、ワクチン製造候補株の更新に貢献した。この研究により、わが国の新型インフルエンザ対策を遅滞なく進めることができた。さらに、インフルエンザワクチンの血清学的な評価研究をおこない、ワクチンの有効性の評価やワクチン株の適正な選定に貢献した。さらに呼吸器系ウイルスを対象としたインフルエンザ様疾患（ILI）のサーベイランスに関する基盤研究を行った。

また全国レベルの包括的で円滑な公衆衛生対策に貢献するため、病原体ゲノムサーベイランスの体制整備に不可欠な情報を収集した。

新型コロナウイルス PCR 検査法（感染研法）は、一部の株でやや感度の低下や波形の変化が見られたが、十分な感度を保持していた。培養細胞とマウスの実験で、変異株の S 蛋白の変化と細胞への感染経路の変化を明らかにした。

### A. 研究目的

- (1) 季節性および新型インフルエンザウイルス株サーベイランス体制の維持・強化。  
国内においては地衛研、海外においては周辺諸国及び GISRS と連携し、流行ウイルス株の収集力と解析方法の改良とそれらの国際標準化を促進する。
- (2) 地衛研から分与された臨床検体を用いてウイルスの分離効率の改善が期待できる細胞株の検討や分離株を用いて抗原解析法の改良を試みる。
- (3) WHO インフルエンザ協力センターとしての国際貢献およびわが国のワクチン株選

定への基礎データを得る研究を行い、国内および世界のインフルエンザ対策に直接的に参画し、研究から得られた成果、情報を適宜提供し、国内外のインフルエンザ対策に貢献する。

- (4) インフルエンザ様疾患（ILI）サーベイランスの基盤研究を行う。
- (5) 包括的病原体ゲノムサーベイランスの整備
- (6) 新型コロナウイルス検査法、ウイルス学的特徴に関する研究を行う。

### B. 研究方法

- ヒトの上気道由来である鼻中隔扁平上皮株化細胞（RPMI2650 細胞）における季節性

インフルエンザウイルスの継時的な増殖について、従来使われている MDCK (hCK) 細胞のそれと比較した。

- A (H3N2) 流行株の抗原性解析系として確立した中和試験法 Focus Reduction Assay (FRA) の更なる改良と標準化を行った。
- 2020/21, 2021/22 シーズンに国内および海外から収集した分離ウイルス株について遺伝子配列を決定し、アミノ酸解析、進化系統樹解析を実施した。
- 国内外における薬剤耐性株検出を実施した。
- 新潟市内の高齢者施設のスタッフと入所者に対し、研究についてのインフォームドコンセントを得たうえで、2021-2022 年シーズン HA インフルエンザワクチン(4 価) を用法に基づき皮下接種した。接種前と接種 3-4 週間後の 2 回、血清を採血した。
- 国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センターで構築した SARS-CoV-2 Genome Surveillance JAPAN の既存プラットフォームを有効利用し、地方衛生研究所が利活用しやすいよう、病原体ごとに特化した SOP 作成や各種病原体のゲノム情報解析サイトの充実を図っていく。
- ウイルスの変異に対する核酸検出系の評価を行った。
- 改良及び SARS-CoV-2 の性質評価培養細胞での評価を行った。

(倫理面への配慮)

ワクチン接種前後の成人層および老人層の血清抗体の採取においては、患者・協力者には十分な説明を行い書式にて署名にて了解を得た。なお本調査は新潟大学医学部倫理委員会にて承認された。

### C. 研究結果

- ① ウイルス増殖については赤血球凝集反応で測定した。その結果、hCK 細胞では感染後

24 時間で赤血球凝集が確認されたが、RPMI2650 細胞では検出されなかった。このことから、RPMI2650 細胞では、hCK 細胞と比較して、増殖の速さが遅いことが示唆された。

- ② 近年の A/H3N2 亜型株は HA への糖鎖付加の影響を受け赤血球凝集活性が極めて低く、HI 試験を用いた抗原性解析に供試できない状況であったが、現在流行を拡げてきている遺伝子グループ 3C. 2a1b. 2a2 に属する株は赤血球凝集活性消失の原因となっている糖鎖が脱落しており、赤血球凝集活性を再獲得していることが本研究を通じて明らかとなった。
- ③ A (H1N1) pdm09 ウイルス : HA 遺伝子系統樹上で、近年の流行株は S183P アミノ酸置換を含む 6B. 1A から派生した複数の群の一つで N260D を特徴として有する 6B. 1A. 5a に属する。
- ④ A (H3N2) ウイルス : ほとんどの株が HA 遺伝子系統樹上の 3C. 2a1 (N171K+I406V+G484E) 内の 3C. 2a1b (N121K+K92R+H311Q) に属した。3C. 2a1b 内では多くが、分岐した 3C. 2a1b. 2 (T131K, V529I, K83E, Y94N, I522M) に属した。さらに、3C. 2a1b. 2 は 3C. 2a1b. 2a (K83E, Y94N, F193S, Y195F, I522M) と 3C. 2a1b. 2b (Q197R, S219F, V347M, E484G) に分岐した。
- ⑤ B 型ウイルス : Yamagata 系統は国内外含め報告されていない。Victoria 系統の分離株は、B/Brisbane/60/2008 株を代表とする V1A に属し、V1A. 3 (3 アミノ酸 (162-164 位) 欠損+K136E) 内の V1A. 3a (N150K, G184E, N197D, R279K) に属する株がほとんどであった。
- ⑥ 日本、ネパール、ミャンマーおよびラオスの季節性インフルエンザウイルス分離株及び国内分離 A (H5), A (H7), A (H9) 鳥インフルエンザウイルスについて解析を行った。その結果、すべての試験株は国内承認薬に対

して感受性を示した。

- ⑦ 成人層におけるワクチン接種後の 40 倍以上の抗体価保有率は、A/H1N1pdm09 が 54.1%、A/H3N2 が 32.7%、B 山形系統が 56.1%、B ビクトリア系統が 65.3%であった。4 系統すべてで EMEA が定める有効な抗体価の基準である 70%に達しなかった。
- ⑧ 高齢者層ではワクチン接種後の 40 倍以上の抗体価保有率は、A/H1N1pdm09 が 35.0%、A/H3N2 が 35.0%、B 山形系統が 27.5%、B ビクトリア系統が 62.5%であった。EMEA の定める高齢者の国際基準の 60%を越したワクチン株は B/ビクトリア系統のみであり、残りの A 型 2 亜型と B/山形は国際基準に達していなかった。
- ⑨ 現在、SARS-CoV-2 ゲノム解読の標準作業手順書 SOP 作成および地方衛生研究所を対象に技術研修会を実施し（のべ 90 箇所、計 9 回）、現場主体でゲノム情報取得が可能となっている。インフルエンザウイルスや RS ウイルス等の主要呼吸器ウイルスへの拡張や充実も期待される。
- ⑩ SARS-CoV-2 プライマー-N2 および S2 セットについて、GISAID に登録されている SARS-CoV-2 を用いてミスマッチ検索を行い、特徴的なミスマッチと由来国のピックアップ、それらの検出感度への影響の検討を行った。
- ⑪ 培養細胞（in vitro）における実験で、SARS-CoV-2 アルファ変異株、デルタ変異株がフーリンによる S タンパクの開裂性が高まることによって、TMPRSS2 を介した細胞への早期侵入経路を効率良く利用できる性質を獲得していることが明らかになった。一方、オミクロン株については、TMPRSS2 を介した細胞への早期侵入経路を利用する能力は低く、エンドサイトーシスで細胞へ侵入しカテプシンの活性を使って感染することが明らかになった。TMPRSS2 ノックアウトマウスを用いた実験では、その結果の

一部を補強するデータを得ることができた。

#### D. 健康危険情報

なし

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Takashita E, Morita H, Nagata S, Shirakura M, Fujisaki S, Miura H, Takayama I, Arita T, Suzuki Y, Yamaoka M, Tanikawa T, Tsunekuni R, Mine J, Sakuma S, Uchida Y, Shibata A, Iwanaka M, Kishida N, Nakamura K, Kageyama T, Watanabe S, Hasegawa H; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Antiviral susceptibilities of avian influenza A(H5), A(H7), and A(H9) viruses isolated in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2021 Dec 28. doi: 10.7883/yoken.JJID.2021.751.
- Kotani O, Suzuki Y, Saito S, Ainai A, Ueno A, Hemmi T, Sano K, Tabata K, Yokoyama M, Suzuki T, Hasegawa H, Sato H. Structure-Guided Creation of an Anti-HA Stalk Antibody F11 Derivative That Neutralizes Both F11-Sensitive and -Resistant Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses. *Viruses.* 2021 Aug 31;13(9):1733. doi: 10.3390/v13091733.
- Miyauchi K, Adachi Y, Tonouchi K, Yajima T, Harada Y, Fukuyama H, Deno S, Iwakura Y, Yoshimura A, Hasegawa H, Yugi K, Fujii SI, Ohara O, Takahashi Y, Kubo M. Influenza virus infection expands the breadth of antibody responses through IL-4 signalling in B cells. *Nat Commun.* 2021 Jun 18;12(1):3789. doi: 10.1038/s41467-021-24090-z.

## 2. 学会発表

シンポジウム 2「風邪のコロナウイルスと小児の COVID-19-インフルエンザを含めて」ーインフルエンザの病理病態，長谷川秀樹，第 62 回日本臨床ウイルス学会，2021/6/13，国内，口頭.

## F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 検体からのウイルス分離・増殖効率を改善する細胞株の探索・性状解析

研究分担者 渡邊 真治

国立感染症研究所 インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター 室長

### 研究要旨

ヒト鼻中隔扁平上皮由来株化細胞（RPMI2650 細胞）における季節性インフルエンザウイルスの増殖性は、従来使われているイヌ腎由来株化細胞 [Madin-Darby Canin Kidney (MDCK) 細胞] と同程度の増殖性を示すが、増殖する速さは遅いことが示された。

### A. 研究目的

流行期ごとの季節性インフルエンザウイルスの性状（抗原性や抗ウイルス薬感受性）を理解することは、適切なワクチン株を選定する、あるいは抗ウイルス薬耐性株の出現・拡がりに対する対策を施す上で、大変重要である。そのためには、流行期の患者臨床検体からのインフルエンザウイルス分離が必須となる。インフルエンザウイルスの分離にはイヌ腎由来株化細胞（MDCK）細胞が長く慣習的に使用されている。しかしながら近年、特に季節性ウイルスのひとつである A/H3N2 亜型ウイルスについて、MDCK 細胞を用いての分離・増殖効率の低下傾向が報告されてきており、野外流行株の分離捕捉率の低下、またこれによる流行株性状の正確な把握が妨げられることが懸念されている。そこで、季節性インフルエンザウイルス全般の分離・増殖効率の改善を見込める細胞株を探索・樹立を試みた。これまでに、自然界でのヒトでのウイルス増殖の場を反映していると思われるヒト上気道由来である鼻中隔扁平上皮株化細胞（RPMI2650 細胞）でのウイルスの増殖性を示したが、より詳細な増殖性を調べることを目的とした。

### B. 研究方法

ヒトの上気道由来である鼻中隔扁平上皮株化細胞（RPMI2650 細胞）における季節性イン

フルエンザウイルスの継時的な増殖について、従来使われている MDCK (hCK) 細胞のそれと比較した。

（倫理面への配慮）

該当なし

### C. 研究結果

ウイルス増殖については赤血球凝集反応で測定した。その結果、hCK 細胞では感染後 24 時間で赤血球凝集が確認されたが、RPMI2650 細胞では検出されなかった。このことから、RPMI2650 細胞では、hCK 細胞と比較して、増殖の速さが遅いことが示唆された。

### D. 研究発表

#### 1. 論文発表

該当なし

#### 2. 学会発表

該当なし

### E. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 抗インフルエンザ薬耐性株の発生動向調査ならびに 薬剤耐性株検出系の精度管理による危機管理体制の強化

研究分担者 高下恵美

国立感染症研究所・インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官

### 研究要旨

日本を含む東アジア地域における抗インフルエンザ薬耐性株の発生動向の監視を目的として、日本、ネパール、ミャンマーおよびラオスの季節性インフルエンザウイルス分離株について、日本国内で承認されている4種類のノイラミニダーゼ（NA）阻害薬（オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビルおよびラニナミビル）ならびにエンドヌクレアーゼ阻害薬バロキサビルに対する感受性を調べた。その結果、すべての分離株は国内承認薬に対して感受性を示した。

また、新型インフルエンザパンデミックの原因となり得る鳥インフルエンザウイルスの薬剤耐性株検出系について検査精度を確認し、国内分離株に対する承認薬の有効性を評価した。その結果、日本国内で鳥インフルエンザの感染事例が発生した場合、国内承認薬が有効であることが確認され、新型インフルエンザパンデミックへの危機管理体制が強化された。

### A. 研究目的

日本国内において、インフルエンザの治療あるいは予防には、インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼ（NA）蛋白質を標的とするNA阻害薬のオセルタミビル、ペラミビル、ザナミビルおよびラニナミビル、ならびにPA蛋白質を標的とするエンドヌクレアーゼ阻害薬バロキサビルが承認されている。日本は世界最大級の抗インフルエンザ薬使用国であり、薬剤耐性株の出現リスクが高い。したがって耐性株の発生動向の把握は公衆衛生上極めて重要である。そこで、本研究では、薬剤耐性株の監視を目的として、日本を含む東アジア地域における抗インフルエンザ薬耐性株の発生動向を調査した。

また、新型コロナウイルス感染症の流行により、季節性インフルエンザの流行は例年と比べて極めて限定的であり、患者報告数も非常に少なかったが、高病原性鳥インフルエンザの発生が国内外で多数報告され、世界的に新型インフルエンザの発生リスクが上昇した。そこで、本研究では、新型インフルエンザパンデミックの原因となり得る鳥インフルエンザウイルスの薬剤耐性株検出系について検査精度を確認し、国内分離株に対する承認薬の有効性を評価した。

### B. 研究方法

インフルエンザウイルス分離株について、MUNANA 基質を用いた蛍光法により、オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビルおよびラニナミビルに対する感受性試験を実施し、IC<sub>50</sub> 値を算出した。また、Focus reduction assay により、バロキサビルに対する感受性試験を実施し、IC<sub>50</sub> 値を算出した。さらに次世代シーケンス解析により、既知の薬剤耐性マーカーの有無を検索した。

（倫理面への配慮）

該当なし

### C. 研究結果

日本、ネパール、ミャンマーおよびラオスの季節性インフルエンザウイルス分離株について解析を行った。その結果、すべての試験株は国内承認薬に対して感受性を示したが、今後も継続的に、薬剤耐性株の発生動向を監視する必要がある。国内株の解析結果は感染研ウェブサイト上で公表し、自治体や医療機関に広く情報提供を行った。また、海外株の解析結果は、各国のナショナルインフルエンザセンターに対

して随時報告した。

また、日本国内で分離された A(H5)、A(H7)および A(H9)鳥インフルエンザウイルス分離株について解析を行った。その結果、すべての試験株は国内承認薬に対して感受性を示した。したがって、日本国内で鳥インフルエンザの感染事例が発生した場合、国内承認薬が有効であることが確認され、新型インフルエンザパンデミックへの危機管理体制が強化された。

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ・ Takashita E, Morita H, Nagata S, Shirakura M, Fujisaki S, Miura H, Takayama I, Arita T, Suzuki Y, Yamaoka M, Tanikawa T, Tsunekuni R, Mine J, Sakuma S, Uchida Y, Shibata A, Iwanaka M, Kishida N, Nakamura K, Kageyama T, Watanabe S, Hasegawa H; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Antiviral susceptibilities of avian influenza A(H5), A(H7), and A(H9) viruses isolated in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2021 Dec 28.
- ・ Ison MG, Hayden FG, Hay AJ, Gubareva LV, Govorkova EA, Takashita E, McKimm-Breschkin JL. Influenza polymerase inhibitor resistance: Assessment of the current state of the art - A report of the isirv Antiviral group. *Antiviral Res.* 2021 Oct;194:105158.
- ・ Sato M, Takashita E, Katayose M, Nemoto K, Sakai N, Fujisaki S, Hashimoto K, Hosoya M. Detection of variants with reduced baloxavir marboxil and oseltamivir susceptibility in children with influenza A during the 2019-2020

influenza season. *J Infect Dis.* 2021 Apr 10;jiab196.

##### 2. 学会発表

- ・ 高下恵美、川上千春、百木智子、七種美和子、清水耕平、小澤広規、熊崎真琴、宇宿秀三、田中伸子、大久保一郎、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹、河岡義裕。新型コロナウイルス感染症流行下における小児のライノウイルス感染リスクの上昇。第 34 回インフルエンザ研究者交流会シンポジウム。2021 年 7 月。Web
- ・ 高下恵美、川上千春、百木智子、七種美和子、清水耕平、小澤広規、熊崎真琴、宇宿秀三、田中伸子、大久保一郎、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹、河岡義裕。新型コロナウイルス感染症流行下における小児のライノウイルス感染リスクの上昇。第 53 回日本小児感染症学会。2021 年 10 月。東京、Web
- ・ Takashita E, Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Shimizu K, Ozawa H, Kumazaki M, Usuku S, Tanaka N, Okubo I, Morita H, Nagata S, Watanabe S, Hasegawa H, Kawaoka Y. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic. ISIRV-WHO Virtual Conference: COVID-19, Influenza and RSV: Surveillance-Informed Prevention and Treatment. 2021 年 10 月。Web
- ・ 高下恵美、川上千春、百木智子、七種美和子、清水耕平、小澤広規、熊崎真琴、宇宿秀三、田中伸子、大久保一郎、森田博子、永田志保、渡邊真治、長谷川秀樹、河岡義裕。新型コロナウイルス感染症流行下における小児のライノウイルス感染リスクの上昇。2021 年 11 月。神戸、Web

#### E. 知的財産権の出願・登録状況

- ・ なし

## A(H1N1)pdm09 および B 型インフルエンザウイルスの 赤血球凝集阻止試験をもちいた抗原性解析

研究分担者 岸田典子

国立感染症研究所・インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官

### 研究要旨

A(H1N1)pdm09 および B 型の 2022/23 シーズンインフルエンザワクチン株の選定を行うことを目的とし 2021/22 シーズンに海外から収集した A(H1N1)pdm09 および B Victoria 系統分離株の抗原性解析をフェレット感染血清と 2021/22 シーズンワクチン接種者血清を用いて赤血球凝集阻止試験により実施した。A(H1N1)pdm09 の遺伝子グループ 5a1 と 5a2 はフェレット感染血清では抗原性の違いは明確だったが、5a2 に免疫を持つ成人層の血清は 5a1 にもある程度の交差反応性を認めた。B 型については 1A.3a1 や 1A.3a2 に属する株と 2021/22 シーズンワクチン株はフェレット感染血清とヒト血清の両方で抗原性が異なることが示された。WHO は 2022/23 シーズン Egg-based Vaccine 推奨株を、A(H1N1)pdm09 については前シーズンから変更せず 5a2 グループの A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09 類似株とし、B Victoria 系統については 1A.3a2 グループの B/Austria/1359417/2021 類似株に変更した。

### A. 研究目的

インフルエンザウイルスは頻繁に遺伝子変異し、それによってもって抗原性が変化するため、ワクチン株は毎年見直す必要がある。本研究課題では、国内外の A(H1N1)pdm09 および B 型の分離株について、赤血球凝集阻止(HI)試験を用いた抗原性解析を行い、その情報をもとづいて適切な季節性インフルエンザワクチン株の選定を行うことを目的とする。

### B. 研究方法

2021 年 8、9 月にミャンマーとネパールで採取された臨床検体から B Victoria 系統のインフルエンザウイルスを分離し、フェレット感染血清をもちいた HI 試験による抗原性解析を行った。さらに 2021/22 シーズンの国内ワクチン接種者血清と A(H1N1)pdm09 と B Victoria 系統の流行

株との反応性を HI 試験により調べた。

### C. 研究結果

2021/22 シーズンの A(H1N1)pdm09 は、4 月 18 日時点で国内では 1 例報告されたのみだった。2021/22 シーズンワクチン接種者血清(H1pdm09 は A/Victoria/1/2020 (IVR-217) 遺伝子クレード 5a.2 をワクチン抗原に含む)を用いて 5a.1 と 5a.2 に属する海外株との反応性を調べた。成人層の血清では 5a.1 の A/Togo/881/2020 とは比較的反応したが、ワクチンと同じクレード 5a.2 の A/India/PUN-NIV323546/2021 に対しては反応性が少し低下した。A/India/PUN-NIV323546/2021 は、2021/22 シーズンワクチン推奨細胞株の A/Wisconsin/588/2019 とは HA 抗原部位の 186 (T/A) と 189 (E/Q) のアミノ酸が異なることが反応性に影響している可能性

が考えられた。しかしながらフェレット感染血清では差が認められなかった。フェレット感染血清で差が認められた 5a.1 と 5a.2 の抗原性の差が成人層の血清で差が大きくなかったのは 5a.2 の抗原を含むワクチン接種により 5a.1 に対してバックブーストが起こった可能性が考えられた。CDC の 2022 年 2 月の WHO 会議報告によると、3 歳未満の乳幼児の血清では、5a.1 と 5a.2 との反応性に明らかな差が認められた。これは成人層とは異なり、5a.1 抗原には未感作の割合が高いためと考えられる。4 月 18 日時点で B 型の国内分離報告はなかった。2021 年 8 月にミャンマーで、9 月にネパールで採取された臨床検体から B Victoria 系統インフルエンザウイルスを分離し、フェレット感染血清もちいた HI 試験による抗原性解析を行った。ミャンマー、ネパールいずれの株も 1A.3a2 の遺伝子クレードに属し、1A.3 に属する 2021/22 シーズンの WHO ワクチン推奨株 (B/Washington/02/2019) や、1 A.3a1 に属するウイルスのフェレット感染血清には低い反応性を示した。また、2021/22 シーズンワクチンを接種したヒト血清と 1A.3a1 に属する株や、1A.3a2 のネパール株とは反応性が低下していた。以上の結果は WHO の 2021/22 北半球ワクチン選定会議に情報提供され、WHO は 2022/23 シーズン Egg-based Vaccine 推

奨株を、A(H1N1)pdm09 については前シーズンから変更せず 5a2 グループの A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09 類似株とし、B Victoria 系統については 1A.3a2 グループの B/Austria/1359417/2021 類似株に変更した。

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

岸田典子、中村一哉、藤崎誠一郎、高下恵美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、永田志保、桑原朋子、白倉雅之、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、インフルエンザ株サーベイランスグループ 2020/21 シーズンのインフルエンザ分離株の解析 IASR Vol. 42 p247-252: 2021.11

##### 2. 学会発表

Shinji Watanabe, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Emi Takashita, Tomoko Kuwahara, Aya Sato, Miki Akimoto, Hideka Miura, Hiroko Morita, Hiromi Sugawara, Hideki Hasegawa, The Influenza Surveillance Group of Japan Characterizations of circulating influenza viruses in the 2020/21 season and selection of vaccine viruses for the 2021/22 season 第 68 回日本ウイルス学会学術集会 2021 年 11 月神戸

## 改良中和試験法を用いた A/H3N2 亜型野外流行株の抗原性解析

研究分担者 中村 一哉

国立感染症研究所 インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター 主任研究官

### 研究要旨

有効性の高いインフルエンザワクチンの製造、供給には流行株の性状を正確に捉え、流行株の抗原性に一致したウイルス株をワクチン製造用株として選定することが肝要である。本分担研究では、ウイルス感染細胞巢減数試験法（Microneutralizing/Focus Reduction Assay, MN/FRA）を用いた抗原性解析を実施し、今期の A/H3N2 亜型野外流行株の抗原性状を明らかにした。今期インフルエンザの流行規模は非常に小さく、解析に供した野外分離株数は少なかったが、これまでの流行の主流を占めた株とは抗原性の異なる株がアジア地域で増加、国内にも浸潤していること、またこれら抗原性変異株が赤血球凝集活性を再獲得していることを示した。

### A. 研究目的

インフルエンザウイルスはその性状を変化させ続け、毎時期のワクチン戦略に常に懸案をもたらす。インフルエンザ流行株の性状を時期に即して正確に捕捉することはインフルエンザ感染制御戦略において基本的かつ肝要な事項である。特に流行株の抗原性を解析し、これに合致したウイルス株をワクチン製造に供することを目的にウイルス株サーベイランスが国内外の連携の下精力的に行われている。A/H3N2 亜型分離株の抗原性解析は中和試験改良変法であるウイルス感染細胞巢減数試験法（Microneutralizing/Focus Reduction Assay, MN/FRA）を用いて実施されている。本研究は、MN/FRA での抗原性解析試験精度の維持・向上およびインフルエンザウイルス A/H3N2 亜型野外流行株の抗原性状の正確な捕捉に寄与することを目的として行われた。

### B. 研究方法

#### 1) 細胞株

インフルエンザウイルスの受容体を人為的に強発現させた細胞株である MDCK-SIAT1 細胞（SIAT1）はロンドン WHO 協力センターから提供を受けた。SIAT1 の維持は、5%FCS と抗生物質を添加した D-MEM 培地を用いた静置培養にて、標準手順書に記載の手法に従って行った。

#### 2) 供試ウイルス株

2020/2021 および 2021/2022 シーズンに WHO 協力センターから分与された参照株、全国地方衛生研究所（地衛研）においてインフルエンザ患者の検体から分離された後、当センターに分与提供された野外分離株を SIAT1 細胞で再増殖後、あるいは協力医療機関より提供された臨床検体から当センターで分離したウイルス株を用いた。

#### 3) ウイルス分離・継代

SIAT1 細胞を 25cm<sup>2</sup> 細胞培養用フラスコに播種し、単層形成後に分与ウイルス株を D-MEM

培地で 100-1000 倍に希釈したもの、あるいは臨床検体原液を 0.5ml 接種した。ウイルス接種後の培養維持には血清不含、3 $\mu$ g/ml アセチル化トリプシン添加の D-MEM 培地を使用し、34 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> の恒温条件下で 72 時間静置培養した。接種 72 時間後に培養液を回収遠心し、得られたウイルス液を供試材料とした。

#### 4) ウイルス感染力価測定 (Focus assay)

各供試株について、200nM 濃度オセルタミビルを添加した希釈用培地を用いて 10<sup>0.5</sup> 倍階段希釈列を作製し、前日に SIAT 1 細胞を 2.5x10<sup>4</sup>/ウェル播種、一晚培養した 96 穴プレートの各ウェルに添加した。1 時間の吸着反応後、半流動体ゲル Avicel®を各ウェルに添加した。34 $^{\circ}$ C の CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 18-20 時間静置培養後、被験プレートを固定、細胞透過処理後、抗インフルエンザウイルス NP 抗体とペロキシダーゼ標識 2 次抗体を用いた酵素免疫抗体法により、ウイルス感染細胞巣 (focus) を呈色させ、形成 focus を ImmunoSpot アナライザー (CTL 社) を用いて自動計数した。各ウェルの focus 数およびそのウェルの希釈倍数に基づいてウイルス感染力価 (Focus forming unit, FFU) を算出した。

#### 5) MN/FRA

200nM 濃度オセルタミビルを添加した希釈用培地を用いて参照血清の 2 倍階段希釈列を作製し、前日に SIAT 1 細胞を 2.5x10<sup>4</sup>/ウェル播種、一晚培養した 96 穴プレートの各ウェルに添加した。これに一定量のウイルス液を加え、1 時間の中和反応後、半流動体ゲル Avicel®を各ウェルに添加した。34 $^{\circ}$ C の CO<sub>2</sub> インキュベーター内 18-20 時間静置培養後、被験プレートを固定、細胞透過処理を行い、上述 4) の記載に準じて、酵素免疫抗体法で呈色させた形成 focus を ImmunoSpot アナライザー (CTL 社) を用いて自動計数した。中和抗体価は focus 形成数の有意な減数が観察された血清希釈倍数に基づいて算定した。

#### (倫理面への配慮)

本研究においては、鼻腔スワブ等の臨床検体を用いるに際し、国立感染症研究所倫理審査委員会の審査を経て承認を受けた。供試検体は匿名処理を行い、検体提供者特定および個人情報流出の防止に配慮している。また、フェレット血清作製にかかる動物実験倫理に関しては、国立感染症研究所動物実験委員会の審査を経て承認を受けた。

### C. 研究結果

2020-2022 年初の季節性インフルエンザの流行規模は国内外ともに極めて小さく抗原性解析に供する分離株の入手数も少なかった。通常、参照抗血清を作製したウイルス株と供試野外分離株の HA 遺伝子グループが一致している場合、中和試験によって高い反応性 (抗体価) が認められ、両者の抗原性は類似していると判定される。逆に参照抗血清と反応性が悪く低い抗体価を示す供試株については、抗原性が変化した株と判定される。2021/22 シーズンのワクチン推奨株は 2020/21 シーズンに流行の主流を占めた遺伝子グループ 3C.2a1b.2a1 に属する A/Cambodia/e0826360/2020 であり、2021 夏季までは分離解析された株の 6 割強がこの A/Cambodia/e0826360/2020 に対する抗血清と高い反応性を示す抗原性類似株であると判定された。しかし、2021 秋季以降に日本国内およびミャンマー、ネパールの検体から分離された株では、ほぼ全てが抗 A/Cambodia/e0826360/2020 血清との反応性に乏しくこの時期の野外流行株の抗原性の変化が推定された。これら株は A/Cambodia/e0826360/2020 とは異なる遺伝子グループ 3C.2a1b.2a2 に属する A/Darwin/6/2021 に対する抗血清と良好な反応性を示したことから、主流流行株の抗原性は A/Darwin/6/2021 類似のものに遷移してきていることが示唆された。

また、近年の A/H3N2 亜型株は HA への糖鎖

付加の影響を受け赤血球凝集活性が極めて低く、HI 試験を用いた抗原性解析に供試できない状況であったが、現在流行を拓げてきている遺伝子グループ 3C.2a1b.2a2 に属する株は赤血球凝集活性消失の原因となっている糖鎖が脱落しており、赤血球凝集活性を再獲得していることが本研究を通じて明らかとなった。

#### **D. 研究発表**

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

S. Watanabe, K. Nakamura, N. Kishida, S. Fujisaki, M. Shirakura, E. Takashita, T. Kuwahara, A. Sato, M. Akimoto, H. Miura, H. Morita, H. Sugawara, H. Hasegawa, The Influenza Surveillance Group of Japan. Characterizations of circulating influenza viruses in the 2020/21 season and selection of vaccine viruses for the 2021/22 season.

第 68 回日本ウイルス学会学術集会 2021 年 11 月

#### **E. 知的財産権の出願・登録状況**

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

## インフルエンザウイルス分離株についての遺伝子解析

研究分担者 藤崎 誠一郎

国立感染症研究所・インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官

### 研究要旨

2020/21, 2021/22 シーズンのインフルエンザウイルス分離株について遺伝子解析を実施した。A(H1N1)pdm09 ウイルスは全て 6B.1A クレード内の 6B.1A サブクレードに属した。A(H3N2)ウイルスはクレード 3C.2a1 に属し、ほとんどは更に分岐したサブクレード 3C.2a1b.2a に属した。B 型では、Victoria 系統は全てクレード 1A.3 に属した。Yamagata 系統は報告されなかった。例年に比ベインフルエンザウイルスの検出数は減っているが、遺伝子的には抗原性部位を含め変異を蓄積していることから、ウイルス伝播の動向に注意が必要である。

### A. 研究目的

国内外から流行株を収集し、それらの遺伝子配列に基づいた進化系統樹解析、抗原性および薬剤耐性アミノ酸の検出を行う。これらの結果から、特定のアミノ酸が抗原性や薬剤耐性に与える影響を解析し次シーズンの流行予測および適切なワクチン株の選定に役立てる。

### B. 研究方法

2019/20, 2020/21 シーズンに国内および海外（ラオス、ミャンマー、ネパール）から収集した分離株または臨床検体について遺伝子配列を決定し、アミノ酸解析、遺伝子系統樹解析を実施した。具体的には、2019/20 シーズンには A(H3N2) を 34 株、B 型を 4 株、2021/22 シーズンには A(H3N2) を 15 株、B 型を 6 株、解析を行った（2022 年 3 月時点）。またデータベース GISAID から海外のインフルエンザウイルス塩基配列を入手し解析を行った。

（倫理面への配慮）

なし

### C. 研究結果

A(H1N1)pdm09 ウイルス:HA 遺伝子系統樹上

で、近年の流行株は S183P アミノ酸置換を含む 6B.1A から派生した複数の群のうちの一つで N260D を特徴として有する 6B.1A.5a に属する。国内株は解析されていないが、海外報告株はほとんどが 6B.1A.5a.1(N129D, T185I, D187A, Q189E)または 6B.1A.5a.2(N129D, T185I, N156K, V250A, K130N, L161I, E506D)に属した。

A(H3N2)ウイルス:ほとんどの株が HA 遺伝子系統樹上の 3C.2a1 (N171K+I406V+G484E、代表株: A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016) 内の 3C.2a1b (N121K+K92R+H311Q) に属した。3C.2a1b 内では多くが、分岐した 3C.2a1b.2(T131K, V529I, K83E, Y94N, I522M)に属した。さらに、3C.2a1b.2 は 3C.2a1b.2a (K83E, Y94N, F193S, Y195F, I522M)と 3C.2a1b.2b (Q197R, S219F, V347M, E484G)に分岐した。

B 型ウイルス: Yamagata 系統は国内外含め報告されていない。Victoria 系統の分離株は、B/Brisbane/60/2008 株を代表とする V1A に属し、V1A.3 (3 アミノ酸 (162-164 位) 欠損 +K136E) 内の V1A.3a(N150K, G184E, N197D, R279K)に属する株がほとんどであっ

た。

**D. 研究発表**

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

**E. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

## 動物由来インフルエンザウイルスのヒトへの感染リスク評価に関する研究

研究分担者 白倉 雅之

国立感染症研究所・インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官

### 研究要旨

現在、主に東南アジアや中近東では高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。さらに、2013年に発生した鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスは、季節に応じて発生と消失を繰り返している。このような背景から、迅速かつ的確にウイルスの詳細な性状解析を実施し、ヒトへの感染リスク評価を実施することは、重要な意義を持つと考えられる。本研究では、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染リスク評価の一環として、感染モデル動物であるフェレットを用いた飛沫伝播性実験系の確立を行った。まず初めに、実験系の確立のため、伝播性実験専用ケージを設計し、季節性インフルエンザウイルス及びカモ由来の鳥インフルエンザウイルスを使用して検討実験を行った。その結果、飛沫伝播性が既に報告されている季節性インフルエンザウイルスを接種した個体と隣接させたケージに収納した暴露個体では、鼻腔洗浄液中にウイルスが検出された。一方、飛沫伝播性が報告されていないカモから分離された鳥インフルエンザウイルスでは、感染個体においては、ウイルスは検出されたが、暴露個体においては、ウイルスは検出されなかった。以上の結果から、本実験系において、フェレットを用いた飛沫伝播性実験を確立することが出来た。今後、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染リスク評価として本実験系が利用可能と考えられる。

### A

#### 研究目的

現在、主に東南アジアや中近東では高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。世界保健機関（WHO）の報告によれば、2021年11月12日現在、18カ国で、863例の感染者数が確認され、そのうち456名が死亡している。さらに、2013年3月に中国で発生した鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスは、中国さらに他の周辺諸国に拡大している。また、鳥インフルエンザ A(H5N6)ウイルスが我が国をはじめ、中国、台湾、韓国などのアジア諸国、またヨーロッパにまで拡大し、中国においてヒト感染事例が報告されている。これらのウイルスがヒトからヒトへ容易に伝播可能なウイル

スに変異し、新型インフルエンザの出現が危惧されている。

本研究では、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染リスク評価実験の一環として、感染モデル動物であるフェレットを用いた飛沫伝播性実験系の確立を行った。

#### B. 研究方法

##### 1) ウイルス：

A/California/04/2009 (Cal4; H1N1pdm09)、  
A/duck/Alberta/35/76 (Dk35; H1N1)  
使用する前に、TCID<sub>50</sub> 値を測定した。

##### 2) 動物：

フェレット（8頭：日本 SLC より購入）、10

～18 カ月齢、メスを使用した。使用前に、血清を採取し、インフルエンザウイルスに対する抗体が陰性であることを確認した。

3) ウイルス接種、鼻腔洗浄液採取及びウイルス力価測定：

上記ウイルス株を、各々フェレット2頭に経鼻接種（ $10^5$  TCID<sub>50</sub>, 0.5mL）し、感染1日後に隣接する伝播性実験専用ケージにナイーブなフェレットを収納した。感染個体と暴露個体は、1対1で実験を行った。感染及び暴露1, 4, 7, 10 日後に鼻腔洗浄液を採取し、感染及び暴露21 日後に全採血による安楽殺を行った。採取した鼻腔洗浄液中のウイルス力価は、TCID<sub>50</sub> 値を測定した。

4) HI 試験：

採取した血清中の HI 抗体価を測定するため、七面鳥赤血球（TRBC）を用いて定法に基づいて行った。

（倫理面への配慮）

該当なし

### C. 研究結果

季節性インフルエンザウイルス（H1N1pdm09）である Cal4 株では、感染1 日後に隣接するケージに収納した暴露個体において、暴露4、7 日後に鼻腔洗浄液中からウイルスが検出された。一方、カモ由来の鳥インフルエンザウイルスである Dk35 株では、感染個体においては、鼻腔洗浄液中にウイルスは検出されたが、暴露個体では、ウイルスは検出されなかった。さらに、血清中の抗体価を測定した結果、Cal4 株では、暴露個体においても、HI 抗体が検出されたが、Dk35 株では、暴露個体の血清中には抗体は検出されなかった。

以上の結果から、本実験系において、季節性インフルエンザウイルスでは、効率良くウイルスが伝播することが明らかとなり、飛沫伝播実

験系を確立することが出来たと考えられる。

### D. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

### E. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## A(H5)亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析

研究分担者 高山 郁代

国立感染症研究所 インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター 主任研究官

### 研究要旨

本研究は、A(H5)亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの流行状況を把握し、日本におけるヒトでの鳥インフルエンザウイルス感染の発生に備えることを目的とし遂行した。具体的には、日本国内で鳥類から分離された A(H5)亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析を実施し、世界各地で分離されたウイルスと配列比較を行い、主に抗原性に関わる領域に変異が見られないか解析を行った。

### A. 研究目的

鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例は、日本国内では未だ確認されていないが、特に直近数年は、A(H5)亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスへのヒト感染例が、ロシア、中国、インドなどの周辺諸国で報告され、その数は増加傾向にある。そのような背景から、我が国でもヒトでの鳥インフルエンザウイルス感染の発生に備えることは一層重要となっている。本研究では、最新の国内分離株を入手し、世界各地で流行したウイルスとの間でウイルスゲノム配列の比較を行い、主に抗原性に関わる領域に変異が見られないか解析を実施するものである。

### B. 研究方法

本研究では、2021/22 シーズンに日本国内で鳥類から分離された 3 ウイルス(A/chicken/Akita/7C/2021 (H5N8), A/chicken/Kagoshima/21A6T/2021 (H5N1), A/hooted crane/Kagoshima/KU-5T/2021 (H5N8))を入手し、鶏卵により増殖後、その増殖株のウイルスゲノムを次世代シーケンス法により決定した。

また、これら流行株と同 clade の最新のワクチン候補株 A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8)も

入手し、鶏卵ならびに培養細胞で増殖後、その増殖株と受入株のウイルスゲノムを次世代シーケンス法により決定した。

本研究で得られたウイルスゲノム配列は、公共データベース上の過去の同 clade のウイルスゲノム配列と系統樹解析やアミノ酸配列比較を行った。

(倫理面への配慮)

該当なし

### C. 研究結果

国内分離株 3 ウイルスの増殖株のゲノム配列については、分与元による分与株のゲノム配列情報と比較し、完全なアミノ酸変異を伴う変異は見られなかった。また、A/Astrakhan/3212/2020 の受入株と増殖株のウイルスゲノム配列の比較結果では、全部で 5 ヶ所で 2 アミノ酸の混合が検出されたが、受入株と比較して、増殖株で 20%以上混合割合が変化することはなかった。以上の結果から、ウイルス増殖によって、ウイルスの性状は変化していないと考えられた。

系統樹解析の結果から、国内分離株 3 ウイルスの HA 遺伝子は、clade 2.3.4.4 b に分類され、同時期に韓国や中国、ヨーロッパで検出された

ウイルスと近縁であった。また、clade 2.3.4.4  
のワクチン候補株の中では、A/Astrakhan/  
3212/2020 が最も近縁であった。

アミノ酸配列を A/Astrakhan/3212/2020 と比  
較したところ、3～5 アミノ酸が異なっており、  
A/chicken/Akita/7C/2021 と A/hooted crane/  
Kagoshima/KU-5T/2021 では、Antigenic site  
B で T188I 変異が見られ、A/chicken/  
Kagoshima/21A6T/2021 では、Antigenic site  
B で E185K ならびに N189D 変異が見られた。

#### **D. 研究発表**

1. 論文発表  
該当なし
  
2. 学会発表  
該当なし

#### **E. 知的財産権の出願・登録状況**

該当なし

## 抗原変異が誘導されにくいインフルエンザワクチン株の開発

研究分担者 桑原 朋子

国立感染症研究所ウイルス第三部・主任研究官

### 研究要旨

現行の季節性インフルエンザワクチンには、発育鶏卵（鶏卵）で分離されたウイルスが用いられるが、近年、特に A(H3N2)ウイルスにおいては、鶏卵で継代すると、ウイルスの抗原部位に変異が入り、その結果、流行株とワクチン株の抗原性が乖離してしまう現象が起こっている。しかしながら、我々は鶏卵で分離してもウイルスの抗原部位に変異を持たない A/Saitama/103/2014(H3N2)株（埼玉株）の分離に成功した。そこで、我々は埼玉株の性状を明らかにすれば、鶏卵で分離しても抗原変異を起こしにくいウイルスの分離調製法の確立に繋がるのではないかと考え、埼玉株の性状解析を試みた。その結果、埼玉株 NA にはシアル酸レセプター結合能があり、埼玉株は鶏卵において NA を介したレセプター結合により増殖が可能であることが明らかになった。また、埼玉株以外の HA と埼玉株 NA を持つウイルスを作製し、鶏卵で継代したところ、埼玉株 NA を持つウイルスでは、HA に変異が入りづらいことが示唆された。今後さらに研究を進めることにより、埼玉株 NA を用いた鶏卵馴化による抗原変異が誘導されにくいワクチン株の開発につながることを期待される。

### A. 研究目的

WHO の季節性インフルエンザワクチン推奨株は、WHO Collaborating Centre (WHOCC)により鶏卵で分離されたウイルスの中から選定される。我々、国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターも WHOCC の一つであり、より有効性の高いワクチン株の選定に貢献するため、全国の地方衛生研究所や提携医療機関から分与された臨床検体を鶏卵に接種し、ワクチン候補株の分離を行っている。しかしながら、近年の A(H3N2)ウイルスにおいては、鶏卵で増殖しづらく、鶏卵で増殖しても主要抗原である HA に変異が入り、ウイルスの抗原性が変化してしまう現象が起きている。ワクチン株の抗原性の変化は、ワクチン株と流行株の抗原性の乖離を意味しており、これによりワクチンの有効性も低下することが報告されている。このような背景のもと、我々は、鶏卵で A/Saitama/103/2014 (H3N2)(埼玉株)を分離した。通常、鶏卵で

ワクチン株を分離する際には、臨床検体を直接鶏卵に接種し継代するが、我々は埼玉株を分離する際に、臨床検体が少量であったため、まず当研究所で細胞ワクチン開発用に品質管理している MDCK 細胞で継代し、十分なウイルス量を確保した後に鶏卵で継代した。鶏卵で分離した埼玉株の遺伝子を調べたところ、HA には臨床検体と比較して、抗原部位ではない場所 1ヶ所に変異が入っていた。一方で、HA とともにウイルス粒子上に存在する NA には、複数の変異が入っていることが明らかになった。このウイルスのフェレット感染血清を作製し、流行株との反応性を調べたところ、鶏卵分離埼玉株は、流行株と類似の抗原性を保持していることが明らかになった。これは、HA の抗原部位に変異が入っていなかったためであると推測された。また、NA には多数の変異が入っていたことから、埼玉株の鶏卵における増殖には、NA が重要な役割を果たすのではないかと考えた。

そこで、本研究では、鶏卵分離埼玉株の NA に着目し、その性状を明らかにすることにより、鶏卵で継代しても HA の抗原部位に変異が入りづらいワクチン株の開発につながるのではないかと考え、鶏卵分離埼玉株 NA の性状解析を試みた。

## B. 研究方法

### 1) 赤血球吸着試験

Cos-7 細胞に埼玉株の臨床検体 NA、細胞分離 NA、または鶏卵分離 NA をそれぞれ発現させ、0.5%ニワトリ血球を加え、4℃で 1 時間吸着させた。1 時間後、PBS で細胞を洗い、吸着しなかった赤血球を取り除いた。続いて、顕微鏡下で赤血球の吸着を観察し、さらに蒸留水を添加して赤血球を破壊し、吸着していた赤血球のヘモグロビン濃度を測定した。

### 2) ウイルス力価測定

MDCK 細胞を 96well プレートに単層培養し、10 倍階段希釈したウイルスを 100 $\mu$ l ずつ接種した。34℃で 1 時間培養後、2 $\times$ MEM と 3.2% Avicel RC/CL 溶液の混合液を 100 $\mu$ l ずつ重層した。34℃でさらに 20 時間培養した後、細胞を PBS で洗浄し、10%ホルマリン溶液で固定した。

細胞固定後、0.5% Triton-X-100 in 20mM Glycine PBS 溶液で細胞核を透過し、1 次抗体と 2 次抗体で染色し、True Blue™ (KPL) 溶液で plaque を可視化した。抗体には抗 A 型インフルエンザウイルス NP マウスモノクローナル抗体と抗マウス IgG HRP 抗体を用いた。

(倫理面への配慮)

該当なし

## C. 研究結果

通常、インフルエンザウイルスは、HA が細胞表面のシアル酸レセプターと結合することにより、感染を成立させる。また、感染する宿主が変わると、その宿主のレセプターと結合でき

るように主に HA に変異が入る。しかしながら、埼玉株においては、鶏卵に馴化する際に HA ではなく、NA に複数の変異を獲得していた。このことから、我々は埼玉株の鶏卵での増殖には NA が重要な役割を果たしており、その役割とは、レセプター結合なのではないかと考えた。

我々は、これまでに赤血球吸着試験により、細胞分離 NA と鶏卵分離 NA が赤血球吸着能、すなわちシアル酸結合能を持つことを明らかにし、さらに埼玉株 NA のシアル酸結合能の獲得には、T148I 変異が不可欠であることも明らかにした。また、埼玉株が NA によるシアル酸レセプター結合のみで感染を成立させられるかどうかを、埼玉株 HA のシアル酸結合能において重要な部分に変異を挿入し、シアル酸結合能を弱めた HA(HAmut)を作製し、HAmut と埼玉株の細胞分離 NA、または鶏卵分離 NA を持つウイルスを作製した。そして、これらのウイルスの MDCK 細胞と鶏卵における増殖を調べた。その結果、細胞分離 NA を持つウイルスは、MDCK 細胞では増殖したが、鶏卵では増殖しなかった。一方で、鶏卵分離 NA を持つウイルスは、MDCK 細胞と鶏卵の両方で増殖した。この結果から、埼玉株は NA を介して MDCK 細胞と鶏卵で増殖することが可能であるが、鶏卵で増殖するには、T148I 変異に加え、鶏卵分離 NA で認められた他の変異も必要であることが明らかになった。

また、埼玉株以外の HA でも、同様の現象が見られるかどうかを明らかにするため、埼玉株以外の A(H3N2)ウイルス (A/Victoria/361/2011 (Victoria株) と A/Hong Kong/4801/2014 (香港株)) の HA と鶏卵分離埼玉株 NA を持つウイルスを作製し、鶏卵で継代して HA に変異が入るかどうかを検証した。その結果、鶏卵で 5 代継代後も HA に変異は入っていなかった。しかしながら、これらのウイルスを 10 代まで継代したところ、香港株 HA ではアミノ酸置換を伴う変異は認められなかったが、Victoria株においては 6 代継代後から HA の 192 番目の

アミノ酸に変異が入り、9代目でNAの102番目のアミノ酸に変異が入った。ヴィクトリア株では、鶏卵で継代すると6代でHAの4ヶ所に変異が入ることが報告されており、この結果と比較すると、埼玉株NAを持っていると、HAに変異が入りづらいことが示唆された。

さらに、鶏卵分埼玉株NAにこれらの変異が入ることによる構造上の影響を分子動力学シミュレーションにより調べたところ、酵素活性部位周辺と240 loop周辺に構造上の揺らぎが生じることが明らかになった。また、3Dモデルを構築し、 $\alpha 2,3$ 結合のシアル酸（ヒト型）と $\alpha 2,6$ 結合のシアル酸（トリ型）のどちらに親和性を示すかどうかを調べたところ、鶏卵分離埼玉株NAではトリ型のシアル酸への親和性が増している事が明らかになった。

以上の事柄を論文にまとめ、投稿準備中である。

#### **D. 研究発表**

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### **E. 知的財産権の出願・登録状況**

該当なし

## 成人層および高齢者層に対する 2021-22 年季節性インフルエンザワクチン接種後の抗体価反応

研究分担者： 齋藤玲子 新潟大学大学院医歯学総合研究科・教授

研究協力者： 渡辺明美、吉岡沙耶加、渡部久美（新潟大学）

尾ヶ井マサヨ（女池南風苑・看護介護科長）、金沢宏（女池南風苑・施設長）

### 研究要旨

2021-2022 年シーズンの 4 価季節性インフルエンザワクチン接種による成人・高齢者の A/H1N1pdm09、A/H3N2、B/ビクトリア系統、B/山形系統の抗原に対する免疫原性の調査を行った。成人層 98 名(平均年齢 42.7 歳)と、高齢者層 40 名(平均年齢 84.4 歳)のワクチン接種前後の抗体価を赤血球凝集阻止試験(HI 法)で測定し、ワクチン接種による変化を評価した。今シーズンは、A/H1N1pdm09、A/H3N2 のワクチン株が昨年から変更された。全体として、4 価とも反応性が低調で、特に、A/H3N2 の反応性が悪かった。成人層で、接種後の抗体価 40 倍以上の保有率が 70%を超えた抗原は無く、A/H1N1pdm09 と B 型二系統は 50%-60%台で、A/H3N2 は 30%台であった。高齢者層では B/ビクトリア抗原のみ、接種後の抗体価 40 倍以上の保有率は 60%を上回り、国際基準(成人層：70%以上、高齢者層：60%以上)を満たした。本調査では、国内メーカー二社のワクチンを使用した。成人層、高齢者層ともに二社間で概ね差は無かった。接種後の副反応は、発赤、腫れ、痛みが全体の 5 割から 6 割を占めたが、一過性であり、重篤な副反応はみられなかった。

### A. 研究目的

インフルエンザウイルスは、抗原性や型・亜型が年ごとに変化するため、インフルエンザワクチンと流行するインフルエンザの抗原性が一致しないことがしばしばある。このため、WHO が毎年次のシーズンに流行するウイルス株を予測しその情報をもとに、次のシーズンのインフルエンザのワクチン株が決定される。

近年のインフルエンザの流行においては、A(H1N1)pdm09 および A(H3N2)に加えて、B 型ウイルスは、山形系統とビクトリア系統の混合流行が続いており、WHO も 2012-2013 年シーズンから B 型 2 系統を含んだ 4 価ワクチンを推奨している。わが国においても、2015-2016 年シーズンより、4 価のワクチンが導入されている。

2021-2022 年シーズンのインフルエンザワクチン株は、以下の通りである。

\* A/Victoria (ビクトリア) /1/2020 (IVR-217)(H1N1pdm09)

\* A/Tasmania (タスマニア) /503/2020 (IVR-221)(H3N2)

\* B/Phuket (プーケット) /3073/2013 (山形系統)

\* B/Victoria (ビクトリア) /705/2018 (BVR-11)(ビクトリア系統)

(下線は前年度から変更された株)

昨シーズンに比べ、A/H1N1pdm09、A/H3N2 のワクチン株が変更となった。

本調査では、高齢者施設の成人層(<65 歳)およ

び高齢者層(≥65歳)に対して、2021-2022年シーズンにおけるワクチン接種前後の抗体価の変化を赤血球凝集阻止試験(HI法)にて測定し、ワクチン接種後のHI抗体価の変化を評価した。さらに、国内の2社(デンカと阪大ビケン)の免疫原性についても調査した。

追加調査として、ワクチン株と流行株の一致をみるため、全国の各地の医療機関に迅速診断キットを使ったインフルエンザの検体採取を依頼し、インフルエンザウイルスの分離と抗原性解析を試みた。

## B. 研究方法

新潟市内の高齢者施設のスタッフと入所者に対し、研究についてのインフォームドコンセントを得たうえで、年齢、昨シーズンのワクチン接種歴、インフルエンザの罹患歴について聴取した。2021年10~11月に、デンカ社製(デンカ)、または阪大微研社製(微研)の2021-2022年シーズンHAインフルエンザワクチン(4価)を用法に基づき、皮下接種した。接種前と接種3-4週間後の2回、血清を採血した。

血清は採取後すぐに血清分離し、抗体価検査を行うまで-20℃にて新潟大学で保管した。ワクチン接種前後の抗体価は、赤血球凝集阻止試験(HI)法にてガチョウ赤血球と、デンカ社製のワクチン抗原A/Victoria(ビクトリア)/1/2020(IVR-217)(H1N1pdm09)、A/Tasmania(タスマニア)/503/2020(IVR-221)(H3N2)、B/Phuket(プーケット)/3073/2013(山形系統)、B/Victoria(ビクトリア)/705/2018(BVR-11)(ビクトリア系統)を用いて測定した。

抗体価の解析は高齢者施設における65歳未満を“成人層”とし、65歳以上を“高齢者層”として、大きく2つのグループに分けて評価した。

ワクチン接種後48時間以内に発生した、副反応症状について、自記式、または、高齢で自記

ができない者については、介護者が観察または聞き取りをして記録した。

(倫理面への配慮)

患者・協力者には十分な説明を行い、書式への署名にて了解を得た。なお、本調査は新潟大学倫理委員会にて承認されている(2021-0192)。

## C. 研究結果

成人層のペア血清は98名分、高齢者層のペア血清は44名分採取された。成人層の平均年齢は42.7歳、高齢者層の平均年齢は84.4歳であった。

成人層におけるワクチン接種後の40倍以上の抗体価保有率は、A/H1N1pdm09が54.1%、A/H3N2が32.7%、B山形系統が56.1%、Bビクトリア系統が65.3%であった。4系統すべてでEMEAが定める有効な抗体価の基準である70%に達しなかった(表1、図1)。A型の2亜型A/H1N1pdm09、A/H3N2のワクチン株が変更となったためか、免疫原性は低く、特にA/H3N2の反応が悪かった(A/H1N1pdm09:昨年61.2%→今年54.1%、A/H3N2:昨年68.4%→今年32.7%)。

高齢者層ではワクチン接種後の40倍以上の抗体価保有率は、A/H1N1pdm09が35.0%、A/H3N2が35.0%、B山形系統が27.5%、Bビクトリア系統が62.5%であった。EMEAの定める高齢者の国際基準の60%を越したワクチン株はB/ビクトリア系統のみであり、残りのA型2亜型とB/山形は国際基準に達していなかった。(表1、図1)。また、この3抗原については昨年より免疫原性が低かった(A/H1N1pdm09:昨年48.1%→今年35.0%、A/H3N2:昨年61.1%→今年35.0%、B/山形:昨年48.1%→今年27.5%)

抗体陽転率(ワクチン接種前後での抗体価4

倍以上の上昇率)でワクチンの免疫原性を評価すると、成人層では、A/H1N1pdm09が53.1%、A/H3N2が9.2%、B山形系統が1.0%、Bビクトリア系統が10.2%で、EMEAの定めた40%以上という国際基準にA/H1N1pdm09のみが達したが、あとは低調であった(表1)。一方、高齢者層ではA/H1N1pdm09が50.0%、A/H3N2が12.5%、B山形系統が15.0%、Bビクトリア系統が15.0%であった。国際基準にはA/H1N1pdm09のみ上回った。

成人層、高齢者層共に、デンカ生研、阪大微研の二社の製品で抗体価獲得率を比較した。その結果、二社ともに成人層は、A型・B型いずれも国際基準を満たさなかった。高齢者層においても、40倍以上の抗体価保有率は、両社とも、4価ほぼすべてで、国際基準を満たさなかったが、デンカ生研のBビクトリア系統のみ、国際基準を満たしていた。製造会社別の比較では、成人層では両社間に大きな差は見られなかった。しかしながら、高齢者では阪大ビケンが4価とも、デンカに比して悪かった(表1、図1)。

ワクチン後の副反応について、成人層と高齢者層で比較したところ、最も頻度が高い副反応は成人層と高齢者層で共に「発赤」でそれぞれ62.2%、48.8%であった(図2)。次に、頻度の高い副反応は、成人層と高齢者層で共に「腫れ」でそれぞれ53.1%、19.5%であった。成人層では、痛みとかゆみも40%前後報告された。そのほか重篤な全身反応は認められなかった。高齢者層は、成人層に比べ、副反応の申告者数が少ない傾向が認められた。

#### D. 考察

2021-2022年シーズンのワクチンは、高齢者層でのみ、B/ビクトリア系統がワクチン接種後に国際基準を上回った。しかし、全体的に、40倍以上の抗体価の割合は、国際基準に達するこ

となく、低めであった。なかでも、A型の2抗原は前年度から変更となったため、反応が不良で、特にA/H3N2は、40倍以上抗体価の獲得率が、成人および高齢者共に30%台で免疫原性が悪かった。

デンカ生研、阪大微研の二社の製品で抗体価獲得率を比較したところ、成人層では、両社間に大きな差は見られなかった。高齢者層では、阪大ビケンが抗体価獲得率がやや低調であったが、調査人数が20名と少数であったことが影響している可能性があり、実質的にはメーカー間の免疫原性の差はほぼないと考えられた。

これまでの調査と同様に、接種後の副反応は、発赤、腫れ、痛み、痒みなど局所的な反応を示した参加者が全体の5割から7割を占めた。また、重篤な全身反応は今年度も認められなかった。以上のことから、2021-2022年シーズンもインフルエンザワクチンが安全に接種されたと考えられる。

#### (追記)

全国の各地の13医療機関に、インフルエンザ検体採取を依頼したが、新型コロナウイルス流行の影響でインフルエンザの患者の発生が非常に少なかった。インフルエンザ様症状の患者の12サンプルを受領したが、結果として、全てインフルエンザ陰性であった。このため、インフルエンザウイルスの抗原性解析は実施できなかった。

#### E. 結論

2021-2022年の季節性インフルエンザワクチン接種後の抗体価を、成人層と高齢者層で調査したところ、今シーズンは、4価とも免疫原性が低い傾向にあった。本調査では、国内メーカー二社のワクチンを使用した結果、成人層、高齢者層ともに二社間で概ね差は無かった。調査の結果は、次のシーズンのワクチン株の選定の

ために有益であるため、今後も調査の継続が必要である。

謝辞：調査にご協力いただいた女池南風苑の皆さまに感謝いたします。

## **F. 研究発表**

### 1. 論文発表

Wagatsuma K, Saito R, Chon I, Phyu WW, Fujio K, Kawashima T, Sato I, Saito T, Minato M, Kodo N, Suzuki E, Ono Y, Masaki H, Shirahige Y, Kitano A, Hamabata H, Yuyang S, Jiaming L, Watanabe H. Duration of fever and symptoms in influenza-infected children treated with baloxavir marboxil during the 2019-2020 season in Japan and detection of influenza virus with the PA E23K substitution. Antiviral Res. 2022 May;201:105310.

doi: 10.1016/j.antiviral.2022.105310. Epub 2022 Mar 28. PMID: 35358601

### 2. 学会発表

なし

## **G. 知的財産権の出願・登録状況**

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

## 新型コロナウイルス等病原体ゲノム・モニタリングシステムの開発と全国自治体間の情報共有システムの開発

研究分担者 黒田 誠

国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター・センター長

### 研究要旨

全国レベルの包括的で円滑な公衆衛生対策に貢献するため、病原体ゲノムサーベイランスの体制整備に不可欠な情報を収集した。新型コロナウイルス SARS-CoV-2 ゲノムサーベイランスで確立した基盤を活用し、次年度以降、各種病原体の特徴に即した SOP 作成やプラットフォーム構築を実施予定である。

### A. 研究目的

主要呼吸器ウイルス（SARS-CoV-2, インフルエンザウイルス, RS ウイルス）等の病原体ゲノムサーベイランスを構築し、全国レベルの包括的で円滑な公衆衛生対策に資する体制整備を目的とする。

### B. 研究方法

国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センターで構築した SARS-CoV-2 Genome Surveillance JAPAN の既存プラットフォームを有効利用し、地方衛生研究所が利活用しやすいよう、病原体ごとに特化した SOP 作成や各種病原体のゲノム情報解析サイトの充実を図っていく。

（倫理面への配慮）

新型コロナゲノム情報取得と解析において、「国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会」にて承認を得た（No 1178, 令和 2 年 9 月 3 日承認）

### C. 研究結果

現在、SARS-CoV-2 ゲノム解読の標準作業手順書 SOP 作成および地方衛生研究所を対象に技術研修会を実施し（のべ 90 箇所、計 9 回）、

現場主体でゲノム情報取得が可能となっている。ゲノム情報が得られるまでの時間が短縮され、迅速な公衆衛生対策の構築に貢献できた。また、複数地域で作業負担を分配することで、全国レベルの包括的で円滑な病原体ゲノム・サーベイランスの基盤構築にもつながった。

全国的な SARS-CoV-2 ゲノムサーベイランスは確立したものの、インフルエンザウイルスや RS ウイルス等の主要呼吸器ウイルスへの拡張や充実も期待される。既存のプラットフォームを有効利用し、病原体ごとに特化した SOP 作成やゲノム情報解析サイトの充実を図っていく。

### D. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし
2. 学会発表  
該当なし

### E. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働行政推進調査事業費（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）  
分担研究年度終了報告書

新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資する  
サーベイランス及びゲノム解析に関する研究

研究分担者 竹田 誠  
国立感染症研究所・ウイルス第三部・部長

### 研究要旨

申請者らは呼吸器ウイルスの病原体検査の実務担当者として、1月16日に国内で最初の SARS-CoV-2 感染患者を特定し、同時に国内の PCR 検査法を確立し、自治体へ向けてマニュアルの作成や検査試薬の配布などを行い、また、検査法の改良や精度の確認などを行ってきた。本研究においても、国際的遺伝子情報登録データベース等から入手した SARS-CoV-2 の配列を解析し、ミスマッチの傾向を把握し、各種変異に対する PCR 検査法の精度や感度の確認を行ってきた。また、変異株の性質を把握するために、特に感染に重要なスパイク蛋白の性状を解析し、培養細胞 (in vitro) における実験では、アルファ変異株、デルタ変異株が細胞のゴルジ装置に遍在するフーリンによるスパイク蛋白の開裂性が高まることによって、別の宿主プロテアーゼ TMPRSS2 を介した細胞への早期侵入経路を効率良く利用できる性質を獲得していることを明らかにした。一方、オミクロン株については、TMPRSS2 を介した細胞への早期侵入経路を利用する能力は低く、エンドサイトーシスで細胞へ侵入しリソソーム内のカテプシンの活性を使って感染することを明らかにした。マウスを用いた実験では、その結果の一部を補強するデータを得ることができた。

### A. 研究目的

2019 年末に新型コロナウイルス（重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 型：SARS-CoV-2）感染症が発生し、申請者らは病原体担当部の実務担当者として、1月16日に国内で最初の患者を特定し、2月1日の指定感染症への指定に合わせて、リアルタイム RT-PCR 法による検査法をセットアップし、検査コントロールとともに全国地方衛生研究所へ配布した。当該検査法は感染研法として現在も広く利用されており、以後改良を続けて現在では N 遺伝子を対象とした N2 セット、S 遺伝子を対象とした S2 セットによる検査法がマニュアル記載されている。リアルタイム RT-PCR 法による検査法の精度を担保するにはプライマー・プローブにおけるミスマッチの発生を探

索することが欠かせない。SARS-CoV-2 は発生以後も進化を続け、様々な変異体が発生している。本研究ではインフルエンザウイルスならびに SARS-CoV-2 の国際的遺伝子情報登録データベース (GISAID) 等から入手した配列を解析し、ミスマッチの傾向を把握し、必要に応じて変異株の検査コントロールを作製し、検出感度への影響を調べる。検出感度への影響のあるミスマッチが行政検査へ影響を与えると想定されるケースでは、プライマー・プローブ配列改良あるいは新たな領域での検出系を構築する。

SARS-CoV-2 の感染では、ウイルス表面のスパイクタンパク (S タンパク) と宿主細胞膜上のウイルスレセプターとの結合、次に複数の宿

主プロテアーゼによる S タンパク質の開裂と構造変化による膜融合、その後、ゲノム RNA が細胞内へ侵入というステップを経て、感染が成立する。よって、ウイルスレセプター分子と宿主プロテアーゼが宿主特異性と臓器指向性を決定しており、かつ、病原性に関与する。我々はこれまでに、インフルエンザウイルスや重症肺炎関連コロナウイルスの肺における感染と病原性において II 型膜貫通型セリンプロテアーゼの一種 (TMPRSS2) が主要な役割を担っていることを *in vivo* モデルで明らかにしてきた。そこで、SARS-CoV-2 変異株の性質を培養細胞レベルで評価を行うとともに、性質評価法の一つとして TMPRSS2 ノックアウトマウスと野生型マウスを用いた *in vivo* 評価系を構築・整備し、その変異株の性状について検討する。

## B. 研究方法

ウイルスの変異に対する核酸検出系の評価と改良 (研究協力者 白戸憲也 (国立感染症研究所ウイルス第三部))

新型コロナウイルス遺伝子配列は GISAID (Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data, <https://www.gisaid.org>) に集約されているため、GISAID より流行の中心となっている変異体の全長配列データを入手する。Fasta 形式でダウンロードしたデータをコマンドラインで約 15000 配列毎にファイルを整理し、WH-human1(MN9008947)を元に、MAFFT(Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences) version 7([https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/add\\_fragments.html?frommanual](https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/add_fragments.html?frommanual)) を用いてアライメントを作成し、Sequencher(ver.5.4.6)を使用してプライマー・プローブ配列におけるミスマッチ配列を検索する。データは月ごとに整理し、トレンドを把握する。存在比率が数%となるようなミスマッチや、プライマーの 3' 末端付近に見られる場合は、検査コントロール用テンプレ

ート配列と site direct mutagenesis 技術を用いて変異体と同様の配列を持つ RNA コントロールを作成し、吸光度あるいは蛍光値をもとにして定量し、段階希釈列を作製してリアルタイム RT-PCR 法による検出を行い、ミスマッチが検出感度に与える影響を調べる。必要に応じて

Primer3(<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) 等のプライマー・プローブ設計ソフトを用い、N2、S2 セットの対象領域以外の配列を用いて新たなセットを検索し、検出感度、特異的反応性の評価を行う。

### SARS-CoV-2 の性質評価

培養細胞での評価 (研究協力者 柿崎正敏 (国立感染症研究所ウイルス第三部))

SARS-CoV-2 の細胞への侵入機構には 2 種類 (早期侵入経路と後期侵入経路) あり変異株毎にどちらの感染経路により依存しているかの程度が異なっている。また、その違いが SARS-CoV-2 の変異株毎の伝染力の違いの主な原因のひとつになっている。早期侵入経路は TMPRSS2 に依存した侵入経路であり、後期侵入経路はエンドサイトーシスに依存した経路である。TMPRSS2 阻害剤、エンドサイトーシス阻害剤を用いるなどして、変異株の侵入経路の変化を明らかにし、流行株の伝染力の評価に役立てる。

TMPRSS2 ノックアウトマウスを用いた動物モデル (*in vivo*) 評価系の構築 (研究協力者 岩田奈織子、坂井祐介、永田典代 (国立感染症研究所感染病理部))

TMPRSS2 ノックアウトマウスの生産・維持に関わるプロトコルを整備し、評価が必要となった際にすぐに供給できるように生産体制を整える。また、SARS-CoV-2 感染実験とその評価方法 (ウイルス感染価、ウイルス関連 RNA の定量、中和抗体価測定、病理学的解析法、免疫組織化学、サイトカイン・ケモカイン評価、統計処理法) についてプロトコルを整備する。

これらの2点について問題点、改善点を整理し、対応する。

動物モデル (In vivo) 評価系による変異株の性状解析 (研究協力者 岩田奈織子、坂井祐介、永田典代 (国立感染症研究所感染病理部))

上記で準備した TMPRSS2 ノックアウトマウスと野生型マウスを用いて SARS-CoV-2 変異株の in vivo 性状解析を行う。マウスに対して感染性を発揮しない変異株については培養細胞系 (in vitro) および動物モデル系 (in vivo) によるマウス継代株の作製を試み、その性状解析を行う。

(倫理面への配慮)

ウイルス分離に用いた人の臨床検体については、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (平成26年文部科学省・厚生労働省告示第3号)、遺伝子治療等臨床研究に関する指針 (平成27年厚生労働省告示第344号) 及び国立感染症研究所で定めた倫理規定を遵守し、あらかじめ国立感染症研究所の人を対象とする生命科学・医学系研究倫理審査委員会の承認を得て研究を実施した (令和2年1月28日、番号1091)。全ての動物実験計画書は、国立感染症研究所の動物実験委員会の審査の後、承認を得て実施した。実施にあたっては“厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針”および機関内規程を遵守した。また動物に無用な苦痛を与えないよう、獣医師の指導の下、麻酔薬の投与・保安等に留意するとともに、実験動物の状態を定期的に観察し、必要に応じて適切な処置を講じた。遺伝子組換え実験に関しては、“遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性確保に関する法律”を遵守し、国立感染症研究所の指針に則って実施した。本研究では SARS-CoV-2 ウイルスを用いるため、感染実験を実施する国立感染症研究所においては、「国立感染症研究所・病原体等安全管理規定」に従いバイオセーフティレベルを遵守して実施した。マウスなど、

実験動物を用いた場合には、国立感染症研究所が定める「実験動物管理運営規定」を遵守して実施した。実験動物を取り扱う際には苦痛の軽減や、安楽死の方法など、3R に配慮し、また、動物愛護上の配慮を行って実施した。マウスなどのウイルス接種の実験では、鎮静・鎮痛・筋弛緩剤を混合した塩酸ケタミンの投与もしくはガス麻酔 (イソフルラン) を用いた。安楽殺時には致死量以上の麻酔薬の投与を確実に行った。

### C. 研究結果

N2 および S2 セットについて、GISAID に登録されている SARS-CoV-2 を用いてミスマッチ検索を行い、特徴的なミスマッチと由来国のピックアップ、それらの検出感度への影響の検討を行った。一部の株にみられたミスマッチは感度を数十倍低下させる、もしくは、検出感度への影響はないが、波形が寝る傾向にあったが、依然として、SARS-CoV-2 を十分な感度で検出することができた。

培養細胞 (in vitro) における実験で、アルファ変異株、デルタ変異株がフーリンによる S タンパクの開裂性が高まることによって、TMPRSS2 を介した細胞への早期侵入経路を効率良く利用できる性質を獲得していることが明らかになった。一方、オミクロン株については、TMPRSS2 を介した細胞への早期侵入経路を利用する能力は低く、エンドサイトーシスで細胞へ侵入しカテプシンの活性を使って感染することが明らかになった。TMPRSS2 ノックアウトマウスを用いた実験では、その結果の一部を補強するデータを得ることができた。

### D. 研究発表

#### 1. 論文発表

- ・ 竹田誠 SARS-CoV-2 のウイルス学 周産期医学 51:319- 317, 2021
- ・ 竹田誠 海外における新型コロナワクチンの開発- 世界の治験状況と展望 感染

- と抗菌薬 24:200- 206, 2021
- ・ 竹田誠 パンデミック感染症としての COVID-19 と SARS-CoV-2 の特性 病理と臨床 39:1182- 1189, 2021
  - ・ 竹田誠 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の特性、変異ウイルスの出現 JBSA Newsletter 11:42- 50, 2021
  - ・ 竹田誠 SARS-CoV-2 とヒトコロナウイルスのウイルス学的特徴 小児内科 54:12-17, 2022.
  - ・ Takeda M: Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein. Microbiol Immunol 66:15-23, 2022.
2. 学会発表
- ・ 中嶋章悟, 大橋啓史, 竹田誠, 豊田哲也, 渡士幸一 新型コロナウイルス感染細胞実験を用いたハイスループット化合物スクリーニング系の構築 第 44 回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜, 2021 年 12 月 1-3 日
  - ・ 塩野谷果歩, 山崎雅子, 岩波翔也, 伊藤悠介, 福士秀悦, 大橋啓史, 佐宗若菜, 田中智博, 青木 伸, 倉持幸司, 岩見真吾, 高橋宜聖, 鈴木忠樹, 村松正道, 竹田誠, 脇田隆宇, 渡士幸一 抗マラリア薬メフロキンの強力な新型コロナウイルス感染阻害活性 第 68 回日本ウイルス学会学術集会 神戸国際会議場(ハイブリッド開催), 2021 年 11 月 16-18 日
  - ・ 竹田誠 SARS-CoV-2 と宿主プロテアーゼによる活性化 第 68 回日本ウイルス学会学術集会 神戸国際会議場 (ハイブリッド開催) , 2021 年 11 月 16-18 日
  - ・ 竹田誠 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の特性、変異ウイルスの出現 第7回バイオセーフティシンポジウム ウェブ開催 2021 年 9 月 16 日

#### E. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年
Wagatsuma K, Saito R, Chon I, Phyu WW, Fujio K, Kawashima T, Sato I, Saito T, Minato M, Kodo N, Suzuki E, Ono Y, Masaki H, Shirahige Y, Kitano A, Hamabata H, Yuyang S, Jiaming L, Watanabe H.	Duration of fever and symptoms in influenza-infected children treated with baloxavir marboxil during the 2019-2020 season in Japan and detection of influenza virus with the PA E23K substitution.	Antiviral Res.	201	105310	2022
竹田誠	SARS-CoV-2とヒトコロナウイルスのウイルス学的特徴	小児内科	54	12-17	2022
竹田誠	Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein.	Microbiol Immunol.	66	15-23	2022
Takashita E, Morita H, Nagata S, Shirakura M, Fujisaki S, Miura H, Takayama I, Arita T, Suzuki Y, Yamaoka M, Tanikawa T, Tsunekuni R, Mine J, Sakuma S, Uchida Y, Shibata A, Iwanaka M, Kishida N, Nakamura K, Kageyama T, Watanabe S, Hasegawa H; Influenza Virus Surveillance Group of Japan.	Antiviral susceptibilities of avian influenza A (H5), A(H7), and A(H9) viruses isolated in Japan.	Jpn J Infect Dis.	doi: 10.7883/yoken.JJID.2021.751.		2021
Ison MG, Hayden FG, Hay AJ, Gubareva LV, Gorkovskaya EA, Takashita E, McKimm-Breschkin JL.	Influenza polymerase inhibitor resistance: Assessment of the current state of the art - A report of the isirv Antiviral group.	Antiviral Res.	194	105158	2021
Sato M, Takashita E, Katayose M, Nemoto K, Sakai N, Fujisaki S, Hashimoto K, Hosoya M.	Detection of variants with reduced baloxavir marboxil and oseltamivir susceptibility in children with influenza A during the 2019-2020 influenza season.	J Infect Dis.	224 (10)	1735-1741	2021
岸田典子、中村一哉、藤崎誠一郎、高下恵美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、永田志保、桑原朋子、白倉雅之、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、インフルエンザ株サーベイランスグループ	2020/21シーズンのインフルエンザ分離株の解析	IASR	42	247-252	2021

竹田誠	SARS-CoV-2のウイルス学	周産期医学	51	319-321	2021
竹田誠	海外における新型コロナウイルスワクチンの開発-世界の治験状況と展望	感染と抗菌薬	24	200-206	2021
竹田誠	パンデミック感染症としてのCOVID-19とSARS-CoV-2の特性	病理と臨床	39	1182-1189	2021
竹田誠	新型コロナウイルスSARS-CoV-2の特性、変異ウイルスの出現	JBSA Newsletter	11	42-50	2021
Kotani O, Suzuki Y, Saito S, Ainai A, Ueno A, Hemmi T, Sano K, Tabata K, Yokoyama M, Suzuki T, Hasegawa H, Sato H.	Structure-Guided Creation of an Anti-HA Stalk Antibody F11 Derivative That Neutralizes Both F11-Sensitive and -Resistant Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses.	Viruses	13(9)	1733	2021
Miyauchi K, Adachi Y, Tonouchi K, Yajima T, Harada Y, Fukuyama H, Deno S, Iwakura Y, Yoshimura A, Hasegawa H, Yugi K, Fujii SI, Ohara O, Takahashi Y, Kubo M.	Influenza virus infection expands the breadth of antibody responses through IL-4 signalling in B cells.	Nat Commun.	12(1)	3789	2021

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・センター長  
(氏名・フリガナ) 長谷川 秀樹・(ハセガワ ヒデキ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和4年 3月30日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人新潟大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 牛木 辰男

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再新興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 医歯学系 教授  
(氏名・フリガナ) 齋藤 玲子 (サイトウ レイコ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	新潟大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・室長  
(氏名・フリガナ) 渡邊 真治・(ワタナベ シンジ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
- 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
- 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 高下 恵美・(タカシタ エミ)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 岸田 典子・(キシダ ノリコ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立感染症研究所	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 中村 一哉・(ナカムラ カズヤ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 藤崎 誠一郎・(フジサキ セイイチロウ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 白倉 雅之・(シラクラ マサユキ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 桑原 朋子・(クワハラ トモコ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
- 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
- 研究者名 (所属部・職名) インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 高山 郁代・(タカヤマ イクヨ)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究(21HA2003)
3. 研究者名 (所属部署・職名) 病原体ゲノム解析研究センター・センター長  
(氏名・フリガナ) 黒田誠・クロダマコト
4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立感染症研究所	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 新型及び季節性インフルエンザに係る流行株の予測等に資するサーベイランス及びゲノム解析に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) ウイルス第三部・部長  
(氏名・フリガナ) 竹田 誠・タケダ マコト

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立感染症研究所	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立感染症研究所	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。