

## 3. ウイルス第三部

### 部長 田代 真人

#### 概要

当部は、村山庁舎に配置され、第1室（インフルエンザ）、第2室（風疹）、第3室（麻疹）、第4室（ムンプス）、第5室（インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン）で構成される。業務は、ワクチン製剤の品質管理及び関連する研究、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファレンス業務及び国際協力である。

人事異動では、平成19年7月1日付けで岸田典子（第1室研究員）、原田勇一（第1室研究員）9月1日付けで白倉雅之（第1室研究員）が、12月17日付けで岡本貴世子（第2室研究員）が採用となり、5月10日付けで大槻紀之（第2室研究員）が検定検査品質保証室に併任となった。一方、平成19年4月30日付けで二宮愛（第1室研究員）12月11日付けで今井正樹（第1室主任研究官）平成20年3月31日付けで沼崎啓（第3室室長）が退職した。

当部は、インフルエンザ、風疹、麻疹、おたふくかぜの各ワクチン、 $\alpha$ -グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務、インターフェロン製剤については収去検査を担当し、生物学的製剤 GMP 査察にも協力している。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定の SOP 等の改定、標準品の整備等を進め、GMP を中心とする新たな品質管理体制と国際的に通用する近代的な品質管理への転換を図るために必要な改善を行った。またワクチン製造株のシードロット体制の整備導入を検討し、対応策を提言した。ワクチン製剤の安全性と有効性の確保と National Control Laboratory としての責任を果たすために、部内外で開かれた検討を行い、限られた施設、人員、予算の中で、実施品目、項目の必要性、優先順位を明確にして、基本方針の意思統一を図る努力を続けている。

研究活動では、インフルエンザでは、流行動向調査事業等を地衛研、感染症情報センターと協力して進め、流行ウイルスの抗原・遺伝子解析と流行予測を行い、厚労省の依頼に応じてワクチン製造株を選定した。また抗原解析及びワクチン品質管理用の各種標準品を製造・配布した。更に H5N1 型高病

原性鳥インフルエンザの流行に対応して、新型インフルエンザ対策準備対応計画の策定および新型候補ワクチン、診断方法の緊急開発を行った。麻疹および風疹では、WHO の世界麻疹特別研究室、西太平洋地域レファレンス研究室に指定され、拡大予防接種計画に応じて、地衛研等及び諸外国、WHO と連携して分離ウイルスの遺伝子型同定と分子疫学解析を行った。ムンプス髄膜炎モデルとしてマーモセット、ラットへの脳内接種方法を確立し、ワクチンの安全性評価を進めた。SARS ウイルスの細胞侵入機構を解明し、抗ウイルス剤の開発等への道を開いた。また SARS コロナウイルスの性状および病原性発現機構、治療方法の開発等を進めた。センダイウイルスについてリバーシ・ジェネティクスを用いた研究を進め、P/V/C 蛋白の病原性発現への意義付けと、様々なウイルス分離用のインターフェロン抵抗性細胞株の開発を進めた。

国際協力では、WHO インフルエンザ協力センターとして世界各国から送付された分離ウイルスの解析及び候補ワクチンの効果予測を行い、WHO インフルエンザワクチン推奨株を決定した。H5N1 型の流行に対しては、WHO H5N1 レファレンス研究室にも指定され、世界各地のウイルス診断、分離と解析、各地への技術支援、研修、診断方法の改良を行った。また WHO 世界インフルエンザ計画に参画して WHO および我が国の大流行準備対応計画の策定と実施を推進し、また WHO、世界銀行、JICA 等の依頼に応じて、多くのアジア各国への技術指導、研修を実施した。

#### 業績

##### 調査・研究

・インフルエンザウイルスに関する研究

##### 1. ヒトインフルエンザウイルス流行株のサーベイランス

インフルエンザの流行状況を把握し、次シーズンのワクチン株を選定するために全国 76 地方衛生研究所および感染症感染症情報センターの協力のもとに、インフルエンザウイルス流行株の詳細な性状解析をおこなった。2007/2008 シーズンは流行の始まりが例年より1ヶ月以上早かったものの、ウイ

## ウイルス第三部

ルス分離数から見た流行規模は例年より小さかった。A/H1、A/H3、B 型の分離比はそれぞれ 87%、8%、5%であった。A/H1 分離株の多くはワクチン株 A/Solomon Islands/3/2006 の抗原類似株であったが、抗原性の異なる株も 1 割以上を占めた。それら変異株は A/Brisbane/59/2007 と類似の抗原性を示した。HA 遺伝子の系統樹解析では、全ての分離株は A/Solomon Islands/3/2006 とは区別される一群を形成した。A/H3 分離株の 95%はワクチン株 A/広島/52/2005 とは明らかに抗原性が異なり、それらは A/Uruguay/716/2007 や A/Lyon/1331/2006 等の A/Brisbane/10/2007 類似株で作製したフェレット抗血清によく反応した。系統樹解析でも A/広島/52/2005 とは明らかに区別される A/Brisbane/10/2007 類似株からなる一群を形成した。一方、B 型ウイルスでは前シーズンに流行した Victoria 系統株は B 型全体の約 3 割にとどまり、山形系統株が大半を占めた。Victoria 系統分離株は抗原的にも遺伝的にもワクチン株 B/Malaysia/2506/2004 と類似であったが、山形系統分離株は前山形系統ワクチン株 B/上海/361/2002 (2005/06 シーズン用)とは異なり B/Florida/4/2006 に類似であった。これら、解析結果は定期的に NESID を通じて地方衛生研究所に報告された。また、年 2 回開催される WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議で報告された。さらに衛生微生物技術協議会、日本ウイルス学会等の研究集会を通じて研究機関へ還元され、感染研ホームページで一般にも還元された。[小淵正次、高井弘美、氏家誠、望月菊、島袋梢、板村繁之、影山努、白倉雅之、原田勇一、岸田典子、河野直子、小田切孝人、田代真人]

### 2. インフルエンザワクチンの臨床評価研究

ワクチン接種により得られる抗体に対する流行株の交叉反応性を調べることは、インフルエンザワクチンの有効性やワクチン株の変更の必要性を検討する上で重要である。ウイルス第 3 部第 1 室では成人層および老人層の各群 30 名からワクチン接種前後のペア血清検体を収集し、流行株に対する交叉反応性を評価した。英国、米国およびオーストラリアから入手した血清についても同様の評価を行った。その成績は WHO インフルエンザ協力センター間で交換され、2 月と 9 月に開催された WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議に活用された。[小淵正次、高井弘美、望月菊、島袋梢、影山努、河野直子、齋藤玲子\*、鈴木宏\*、柏木征三郎\*\*、小田切孝人、田代真人：\*新潟大学医学部公衆衛生学、\*\*福岡県赤十字血液

センター]

### 3. 2007/08 シーズンヒトインフルエンザウイルス流行株の遺伝子解析

インフルエンザウイルスの HA 及び NA 遺伝子解析は、次シーズンのインフルエンザ流行予測とワクチン株選定にとって重要な役割を占めている。そこで、全国の地方衛生研究所および独立行政法人製品評価技術基盤機構 (NITE) との協力のもとに、2007/08 シーズンの HA 及び NA 遺伝子についての系統樹解析を行った。A/H1N1 亜型の HA 遺伝子は A/Brisbane/59/2007 に代表される D35N、K140E、K145R、R188K、E273K のアミノ酸置換を持つ一群(サブクレード 2B)と、K140E、R188M、E273K の置換を持つ一群(サブクレード 2C)に大別され、昨季ワクチン株の A/Solomon Islands/3/2006/の属すサブクレード 2A(K73R)と異なる一群を形成した。A/H3N2 亜型の HA 遺伝子の大半は A/Brisbane/10/2007 及び A/Uruguay/716/2007 に代表される G50E、K140I のアミノ酸置換を持つ一群(ブリスベン 10 系統)に属した。B 型の山形系統では、B/Florida/4/2006 に代表される V251M の置換を持つ一群を形成し、一方、ビクトリア系統では B/Malaysia/2506/2004 に代表される K48N、K80R、K129N の置換を持つ一群を形成した。NA 遺伝子の系統樹も HA 遺伝子の系統樹と同様であった。[氏家誠、小淵正次、影山努、望月菊、島袋梢、田代真人、堀川博司\*、加藤裕美子\*、細山哲\*、原田健史\*、矢代勲\*、山田隆一\*、藤田信之\*、小田切孝人：\*独立行政法人製品評価技術基盤機構]

### 4. インフルエンザウイルス NA 阻害剤 (NAI) 感受性試験の構築

我が国でインフルエンザ治療薬のノイラミニダーゼ阻害薬が認可されて以来、国内のオセルタミビルの使用量は全世界の生産量の 70%を超えるようになり、耐性株の出現が懸念されている。現在、我が国の NAI 耐性株サーベイランスは NA 遺伝子解析から既知の耐性マーカーを検出することで実施されているが、この方法では未知の耐性マーカーをもつ耐性株が出現した際に見逃してしまうという大きな問題点があった。このため、NA 遺伝子解析と並行して NAI 存在下でウイルスの NA 活性を測定する薬剤感受性試験の構築が必要となった。そこで、NA-star (Applied Biosystem 社)を酵素基質として用いた

## ウイルス第三部

化学発光法による薬剤感受性試験の確立を試みた。測定法の妥当性を評価するため代表的な耐性マーカーH275Y(H1N1)、H155Y(H1N1)、E119V(H3N2)、R292K(H3N2)、R152K(B)を持つ耐性株を用いて 50%NA 活性阻害濃度 (IC<sub>50</sub> 値) を測定した。その結果、全ての耐性株で明らかな IC<sub>50</sub> 値の増加が認められ、構築した薬剤感受性試験は既知の耐性株を容易に検出する事が可能である事がわかった。この系を用いて、今シーズンの分離株 (解析数: A/H1N1 亜型 = 140 株、A/H3N2 亜型 = 31 株、B 型 = 6 株) の IC<sub>50</sub> 値を測定したところ、H275Y の耐性マーカーを持つ A/H1N1 耐性株 22 株について明確な IC<sub>50</sub> 値の上昇が認められた。[ 氏家誠、小淵正次、島袋梢、田代真人、小田切孝人 ]

### 5. H275Y 耐性マーカーを持つ A/H1N1 インフルエンザオセルタミビル耐性株サーベイランス

2007 年 11 月以降から EU 諸国を中心に A/H1N1 インフルエンザウイルスの NA 蛋白質に H275Y 耐性マーカーを持つオセルタミビル耐性株が高頻度に分離され、ノルウェーの 67% を筆頭に EU 諸国全体で 20% 以上を占めるようになった。複数の国にまたがって、これほど高頻度にオセルタミビル耐性株が分離された例はこれまでになく、オセルタミビル耐性株の世界的な流行が懸念されている。このため WHO グローバルインフルエンザサーベイランスネットワークでは、世界的な耐性株サーベイランスの強化のため、各国における耐性株出現頻度を週単位で報告するように要請している。このような背景から、我が国でも全国地方衛生研究所および NITE と協力して、2008 年分離株を中心に H275Y 耐性マーカーを持つ A/H1N1 インフルエンザオセルタミビル耐性株の緊急サーベイランスを実施した。この結果、NA 遺伝子解析および NA 薬剤感受性試験により、総解析数 1360 株中 22 株の耐性株が同定され、国内の耐性株の発生頻度は 1.6% であった (2008 年 4 月まで)。これらの発生頻度は欧米や香港などの諸外国に比べて著しく低く、わが国がオセルタミビル最使用国であるにもかかわらず、耐性株の発生状況は今の所通年の状態を維持していることが分かった。また、国内で同定された耐性株は次季ワクチン株である A/Brisbane/59/2007 に抗原的に類似しており、これらの耐性株に対しては次季ワクチンの効果が期待できる事が分かった。さらにこれらの耐性株はオセルタミビルに対しては耐性を示すがザナミビルに対しては感受性

であるため、ザナミビルによる治療が有効であることが分かった。[ 氏家誠、小淵正次、島袋梢、望月菊、田代真人、堀川博司\*、加藤裕美子\*、細山哲\*、原田健史\*、矢代勲\*、山田隆一\*、藤田信之\*、小田切孝人: \*独立行政法人製品評価技術基盤機構 ]

### 6. 2006/07 シーズンのインフルエンザウイルスの遺伝子解析による薬剤耐性株の検出

現在、インフルエンザの治療薬として NA 阻害薬及び M2 蛋白質阻害薬が認可されているが、インフルエンザウイルスの NA 及び M2 蛋白質の特定部位にアミノ酸置換が起こるとこれらの薬剤に対して耐性となる。そのため、市中流行株の遺伝子解析による薬剤耐性マーカーの検出は薬剤耐性株の出現動向の把握のために重要である。そこで、NITE との共同事業により、2006/07 シーズン (2006 年 10 月 ~ 2007 年 9 月) に分離されたインフルエンザウイルスの NA 遺伝子、M 遺伝子について遺伝子解析を行い耐性株の検出を行った。この結果、M2 蛋白質阻害薬の塩酸アマンタジンに対する耐性株の発生頻度は A/H1N1 亜型で約 58% (49/76: 耐性株検出数/総解析数)、A/H3N2 亜型で約 83% (168/201) であり、昨シーズン (A/H1N1 = 約 26%、A/H3N2 亜型 = 約 84%) に比べ特に A/H1N1 亜型で耐性株の流行が広がっている事が明らかになった。一方、NA 阻害薬のオセルタミビルに対する耐性株の出現頻度は、A/H1N1 亜型で 0% (0/98)、A/H3N2 亜型で 0% (0/251)、B 型で 0% (0/143) であり、2006/07 シーズンにはオセルタミビル耐性株の流行が殆どなかった事が示唆された。[ 氏家誠、小淵正次、影山努、望月菊、島袋梢、田代真人、堀川博司\*、加藤裕美子\*、細山哲\*、原田健史\*、矢代勲\*、山田隆一\*、藤田信之\*、小田切孝人: \*独立行政法人製品評価技術基盤機構 ]

### 7. 我が国に飛来する野鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査

2003 年末から東アジアの家禽で発生した A/H5N1 型高病原性鳥インフルエンザの大流行は、中近東、ヨーロッパ、アフリカへと拡大した。この感染拡大経路は渡り鳥の飛行ルートとよく関連していることから、渡り鳥によって高病原性鳥インフルエンザウイルスが我が国に持ち込まれる可能性がある。本研究では、高病原性鳥インフルエンザウイルスの国内侵入を監視する目的で、渡り鳥における鳥インフルエンザウイル

## ウイルス第三部

スの生態調査を行った。西日本の湖沼において採取された野生水禽の糞便 677 検体を発育鶏卵または MDCK 細胞に接種したところ、8 株の鳥インフルエンザウイルスが分離された。全ての分離株について抗原性状と遺伝子性状を解析したところ、いずれの分離株も低病原性の鳥インフルエンザウイルスであることが確認された。[ 影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、千々和勝己\*、島津幸枝\*\*、山岡政興\*\*\*、中村雅子\*\*\*\*、石崎徹\*\*\*\*\*、田代真人、小田切孝人：\*福岡県保健環境研究所、\*\*広島県立総合技術研究所保健環境センター、\*\* \*兵庫県立健康環境科学研究所、\*\*\*\*福井県衛生環境研究センター、\*\*\*\*\*京都保健環境研究所]

### 8. 新型インフルエンザ遺伝子診断法の開発

高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1-HPAIV)は、現在も東南アジア、東アジア、中東、アフリカ地域を中心に流行が続いている。H5N1-HPAIV の流行株は、抗原的あるいは HA 遺伝子の違いに基づいて分類されている。2004 年ベトナムで主に流行したクレード 1、2005 年以降インドネシアで主に流行している clade 2 サブ clade 1(clade 2.1)、中国青海湖、中東、アフリカ、ヨーロッパ等の地域で流行している clade 2.2、主に中国南部で流行している clade 2.3 である。現在市販されている H5-LAMP 検査キットは clade 2.2 および 2.3 に対する反応性が低い事が明らかとなっている。そこで最近の流行株を捉えられるようプライマーの修正変更を行い、各 clade に対する反応性を調べた。その結果、改良した H5-LAMP 検査キットは、clade 2.3 に対してのみ反応性が低く、全ての clade を高感度に検出するためには、さらなる改良が必要であることが分かった。[ 影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、田代真人、小田切孝人]

### 9. ヒト用新型インフルエンザワクチン製造株作製のための細胞株の有用性に関する研究

ヒトに接種できるインフルエンザワクチン株をリバースジェネティクス(RG)法で作製するためには、高度な安全性が確保されたワクチン製造用細胞株が必要である。我々は既に、American Type Culture Collection から入手した LLC-MK2 細胞は安全性が高く、ヒト用ワクチン製造用細胞株として有望であることを報告している。更に我々は、この細胞を用いた RG システムで、A/H5 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルス

から弱毒化ワクチン株を作製できることを報告している。今回は、LLC-MK2 細胞の RG システムが A/H5 亜型以外で新型インフルエンザとして出現の可能性がある A/H6、A/H7 および A/H9 亜型株のリアソータントウイルスワクチン株が作製できるか検討した。その結果、LLC-MK2 細胞を用いた RG 法によりこれら亜型のリアソータントウイルスワクチン株の作製にも利用できる事が分かった。[ 影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、田代真人、小田切孝人]

### 10. 国家備蓄用 H5N1 プロトタイプワクチン候補株の増殖性の検討

A/H5 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスに起因した新型インフルエンザウイルスの出現とそれによる世界的な汎流行が危惧されており、国の新型インフルエンザ対策の一環としてプレパンデミックワクチンの備蓄が進められ、昨年度は、WHO が推奨する NIBRG-14 および Indonesia-5 の 2 株のプレパンデミックワクチンを備蓄した。ワクチン製造は孵化鶏卵を用いて行われるため、H5N1 備蓄ワクチン株の選定材料の一つとして孵化鶏卵での増殖性が重要となる。本年度は、WHO が推奨する Qinghai-1A、Mongolia-244 および Anhui-01 の 3 株をワクチン候補株として確保した。我々は、これらの A/H5N1 ワクチン候補株の孵化鶏卵での増殖性を検討するためウイルス感染価(EID<sub>50</sub>)の測定及びウイルス蛋白質収量を調べた。この結果、Anhui-01、Qinghai-1A、Mongolia-244 の順に高い増殖性を持つ事が明らかとなった。これらの結果は、国家備蓄ワクチン株選定の判断材料として活用された。[ 影山努、今井正樹、岸田典子、小田切孝人、田代真人]

### 11. 分離した高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスの性状解析

2007 年にラオスの国立疫学研究所から送付された A/H5N1 インフルエンザ疑いの 16 検体から、MDCK 細胞および孵化鶏卵を用いてウイルス分離を行い 3 株の A/H5N1 ウイルスを分離した。また、2007 年にミャンマーの国立衛生研究所から送付された A/H5N1 インフルエンザ疑いの 25 検体から、MDCK 細胞および孵化鶏卵を用いてウイルス分離を行い 11 株の A/H5N1 ウイルスを分離した。これら分離株について、抗原解析および遺伝子解析を行ったところ、いずれも抗原性は WHO が推奨するプロトタイプワクチン株(A/Anhui/1/2005)と

## ウイルス第三部

類似していることがわかった。このことから、2007年にラオスおよびインドネシアで流行したA/H5N1ウイルスは2005年のプロトタイプワクチン株と比べて抗原性に大きな変化がない事が示唆された。[ 影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、小田切孝人、田代真人 ]

### 12. 新型インフルエンザワクチン接種者の血清抗体の交差反応性の解析

新型インフルエンザの可能性の高い高病原性鳥インフルエンザA/H5N1ウイルスには様々な抗原性の流行ウイルスが認められ特定のウイルス株によって製造されたワクチンの交差反応性はワクチン開発において重要な課題のひとつである。そこで、第1相臨床試験に参加されたワクチン接種者から同意の得られた方の血清についてワクチン株とそれとは遺伝的、抗原的に異なるワクチン候補株2株について昨年度中和抗体価を測定したが、本年度はさらに別の抗原性を有するワクチン候補株1株と強毒株2株について中和抗体価を測定した。抗原性の異なるワクチン候補株についても交差反応性は認められたがその抗体価はワクチン株に対する抗体価と比較して極めて低い交差反応性を示した。強毒株2株についてもそれに由来するワクチン株と比較した場合、より低い反応性を示した。[ 板村繁之、河野直子、原田勇一、細菌製剤協会、小田切孝人、田代真人 ]

### 13. 新型インフルエンザワクチン株製造のためのGMP準拠施設の運用に関する調査

昨年度よりワクチン株製造施設の建設に伴い、施設のGMPに準拠した運用のために必要なワクチン株製造のための工程品質管理方法、設備基準等について文献や海外の同様の施設からの情報を収集し調査してきたが、本年度も引き続いて調査を実施した。それらの情報を基に、GMPに則した運用を実施するために基準書、標準手順書などの法令等で定められた文書整備を実施した。[ 板村繁之、原田勇一、今井正樹、影山努、白倉雅之、岸田典子、篠原克明\*、網康至\*\*、小田切孝人、田代真人：\*バイオセーフティ管理室、\*\*動物管理室 ]

#### 風疹ウイルスに関する研究

##### 1. 風疹抗体測定のための国内標準血清、国内パネル血清の作製と評価(継続)

標準血清、パネル血清は診断キットや検査会社の試験精度管理のために重要である。インフォームドコンセントを得て収集した血清の抗体価をHI法、EIA法、中和法で測定し、抗体価の相関性を検討したところ、HI抗体価とEIA法による抗体価は比較的良く相関し、相互での変換が可能であると考えられた。中和抗体価とHI抗体価、あるいはEIA抗体価間にも強くはないが、ある程度の相関性は観察された。今後、検査会社、あるいはキット製造社と協同で再度、血清力価を評価し、標準血清、パネル血清を整備していく予定である。[ 駒瀬勝啓、岡本貴世子、大槻紀之、海野幸子、堀内善信\*、門澤和恵：\*細菌第二部 ]

##### 2. 風疹ワクチン株の全塩基配列の解析

風疹ウイルスワクチン株、TO-336株、松葉株、TCRB株とその親株(TCRB株の親株を除く)の全ゲノムの塩基配列をダイレクトシーケンシング法で決定した。ゲノム全長は、TO-336株では9762塩基、松葉株、TCRB株は非翻訳配列に1塩基の欠損があり9761塩基であった。松葉株と昨年度報告したワクチン株高橋株の配列は非常に相関性が高く、両者間で異なる塩基数は、TO-336株とその親株、松浦株とその親株間より少なかった。系統樹解析の結果、松葉株と高橋株はclade 1aのCendehill typeに、TO-336、松浦株はclade 1aのRA27 type、TCRB株はclade 1Bに分類された。これらの情報はワクチンの品質管理や風疹ウイルスワクチン株の性状解析にも有用である。[ 大槻紀之、阿保均、門澤和恵、駒瀬勝啓 ]

##### 3. 日本における風疹ウイルスの経年的変遷

1960年代後半から2007年までに分離された風疹ウイルスのE1領域、あるいは構造蛋白質(C, E1, E2)領域の塩基配列を決定し、過去に報告されていた遺伝子の情報も加えて系統樹解析を行い、現在にいたるまでの日本で流行した風疹ウイルスの経年的変異を解析した。1960年代後半のclade 1a, 1Bに所属するワクチン株の親株以降、clade 1D, 1C, 1j等の様々なgenotypeのウイルスが数年毎に日本で流行していることが明らかになった。また、過去に報告のないgenotypeを形成する年代も観察された。風疹ウイルスのgenotype解析はWHOが次期の目標としている風疹・先天性風疹症候群(CRS)の排除計画にも重要であり今後も継続していく。[ 大槻紀之、阿保均、

## ウイルス第三部

門沢和恵、駒瀬勝啓]

\*\*札幌医科大学]

### 4. 風疹ウイルス高橋ワクチン株の reverse genetic (RG) 法の確立と温度感受性に関与する遺伝子の同定

昨年度塩基配列を決定した風疹ワクチン株、高橋株のゲノムを基盤にした風疹ウイルスのリバースジェネティクス(RG)法を確立した。これによってワクチン株を不安定なウイルスとしてではなく、より安定な DNA としても管理できる可能性を示した。また、同時期に流行した風疹ウイルスゲノムとの比較から、風疹ワクチン株が持つ特徴である温度感受性に関与する領域を推測し、RG 法により様々なキメラウイルスを作製し、同定した。これらの技術、知見はワクチン品質管理に重要であるだけでなく、ウイルスの病原性発現機構の解析にも有用である。[駒瀬勝啓、坂田真史\*、中山哲夫\*：\*北里大学]

## III. 麻疹ウイルスに関する研究

### 1. Vero/hSLAM 細胞の有用性に関する研究

同一検体から Vero/hSLAM および B95a 細胞で得られた麻疹ウイルスの野生株の H 及び N 遺伝子の塩基配列は完全に一致していた。さらに Vero/hSLAM 細胞を用いて現行のワクチン株と野生株の一部について Vero/hSLAM 細胞継代にともなう H 遺伝子領域の変異について検討したが、5 代までの継代では変異は認められなかった。また中和抗体測定などの血清診断への応用も可能であった。培養条件の簡略化、各施設間における手技の標準化なども検討している。[齋藤義弘\*、菅井敏行、關文緒、沼崎啓：\*慈恵会医科大学]

### 2. 牛由来成分を使用しない新たなワクチン製造の開発に関する研究

現在わが国で市販されている弱毒生麻疹ワクチンはニワトリ胚培養細胞で増殖したウイルスで製造されている。現状の製造過程ではウシ血清やトリプシン等の動物由来成分が用いられているが、より安全なワクチンを製造するためには、動物由来成分を排除した製造方法を検討する必要がある。無血清培地では通常のウシ胎仔血清添加の条件下よりも著しい付着細胞数の減少が認められ、ウイルス力価も 1.0 log 程度の低下が認められた。新たなウイルス培養法の確立が必要と考えられた。[齋藤義弘\*、堤裕幸\*\*、沼崎啓：\*慈恵会医科大学、

### 3. 麻疹ワクチンの製造株の品質管理におけるシードロットシステム導入に関する研究

有効で安全な麻疹ワクチンを製造するためにはシードロットシステムの導入は不可欠である。生物学的製剤基準の基で本システムを導入するためには、製造承認株から 4 代継代以内で十分な量のマスターシード、ワーキングシードを設定し、最大でも継代 5 代以内でワクチンを製造する事が要求される。我が国の麻疹ワクチン製造所、3 社では上記の制限下でシードロットシステムの設定が可能であるとしている。製造承認株と 5 代継代後の株間での性状の同一性を検討する必要があると考えられた。[關文緒、菅井敏行、齋藤義弘\*、沼崎啓：\*慈恵会医科大学]

### 4. 麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C 株をベクターとして用いた新規ワクチンの開発に関する研究

麻疹ワクチン株 AIK-C 株のゲノムに、ヒト RS ウイルスの G 蛋白質遺伝子あるいは F 蛋白質遺伝子を組み込んだゲノムを作製し、RG 法を利用してリコンビナントウイルスを回収した。得られたリコンビナントウイルスは、細胞内で RSV-G、F 蛋白質を発現し、 $10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml 程度の増殖能をしめしていた。また、リコンビナントウイルスは AIK-C 株の弱毒のマーカーである温度感受性の形質を維持しており、RS ウイルスに対する新規ワクチンとしての可能性が考えられた。[駒瀬勝啓、藤野元子\*、中山哲夫\*：\*北里大学]

## ムンプスウイルスに関する研究

### 1. おたふくかぜ生ワクチン接種後のムンプス発症例

おたふくかぜ生ワクチン接種後にムンプスを発症した 5 例について調査をおこなった。1 例目はワクチン接種 19 日後に髄膜炎を発症したケース。2 例目はワクチン接種 22 日後に、3 例目はワクチン接種 24 日後に髄膜炎を発症したケースである。4 例目と 5 例目は、どちらもワクチン接種 30 日後に髄膜炎を発症したケースである。いずれのケースも接種したおたふくかぜワクチン株と同じウイルスが髄液から分離され、ワクチンによる副反応である可能性が高いと判断した。[加藤篤、木所稔、渡辺香奈子\*、寺嶋文男\*\*、細身卓司\*\*\*、山下照夫\*\*\*\*、田代真人：\*新潟県保険環境化学研究所、\*\*和歌

## ウイルス第三部

山県環境衛生センター、\*\*\*高知県衛生研究所、\*\*\*\*愛知県衛生研究所]

### 2. ムンプスウイルスリバーシジェネティクス法の確立

同一の親株から分離されながら中枢神経病原性の異なるムンプスウイルス株 Y125 と Y213 の中枢神経病原遺伝子を特定するためには、ウイルスリバーシジェネティクス系の確立が必須である。昨年度構築したミニレプリコンの条件を基礎に、リバーシジェネティクス法による cDNA からの感染性ウイルスの回収を試みた。その結果、全長 cDNA をトランスフェクト後 1 週間ほどで Y213 株由来 cDNA pMuV-Y213 およびキメラ cDNA pMuV-BS5 を導入した細胞にムンプスウイルス特有の CPE が出現し、感染性ウイルスが回収された。現在、回収できたウイルスの生物学的性状を in vitro と in vivo で評価中である。[木所稔、加藤篤、齋加志津子\*、田代真人：\*千葉県衛生研究所]

### 3. おたふくかぜ生ワクチンの牛由来成分を使用しない培養方法に関する研究

おたふくかぜ生ワクチンは牛血清等の動物由来物質を含む培地で増殖維持された鶏胚由来初代繊維芽細胞にムンプスウイルスワクチン株を接種することによって製造される。工程中の動物由来物質の使用はそれらに由来する感染性因子が製剤に迷入する危険を伴う。生物学的製剤基準で定められている 5 代の枠内克つ製造条件に近い低感染価でワクチンウイルスを継代した場合に、ウイルスに如何なる変化が現れるかをホシノ株、ミヤハラ株のゲノム全体に拡げ、ゲノム比較塩基配列決定(CGS)法を用いて無血清培地での継代に於ける安定性を評価することを試みた。15,384 塩基のムンプスウイルスゲノム中、ホシノ株で 13 箇所、ミヤハラ株では 7 箇所あり、そのうちのそれぞれ 9 箇所と 3 箇所がアミノ酸変異を伴うものであった。継代によるゲノムの安定性が株により異なることが確認された。[木所稔、加藤篤、久保田耐、田代真人]

### 4. マーモセット脳内接種試験によるムンプスウイルス神経病原性の評価

我々はマーモセットの脳内接種試験によってワクチン株の病原性の違いをするため 20 頭のマーモセットに国内外のおたふくかぜワクチン 5 株(Jeryl Lynn 株、星野株、鳥居株、宮原株、占部株(統一株 MMR 用))と野外株 2 株(02-49 株と大館株)を接種し、通常のウイルス学的検索と病理学的検索に加え、

MRI による観察を行った。ウイルス学的検索として、リアルタイム PCR によるウイルスゲノムの定量を行った。MRI では、病原性との明確な関連性は認められなかった。リアルタイム PCR の結果ではほぼ全ての個体で中枢神経系の全領域と髄液からウイルスゲノムが検出されたが、中枢神経系のウイルス量の傾向としては 02-49 株 > 大館株、国産ワクチン株 > Jeryl Lynn 株となった。大館株ではリンパ組織におけるウイルス量が高いのが特徴であった。病理学的検索の結果では大館、02-49、占部、星野、宮原、鳥居の順に病原性が強いことが示され、ヒトにおける病原性により忠実な結果が得られた。[木所稔、加藤篤、久保田耐、齋加志津子\*、網康至\*\*、須崎百合子\*\*、永田典代\*\*\*、田代真人：\*千葉県衛生研究所、\*\*動物管理室、\*\*\*感染病理部]

## V. インターフェロン、急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

### 1. 呼吸器細菌感染マウスを用いて分離した高病原性 SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

弱毒呼吸器細菌パストツレラ菌 (pp) 感染マウスでは、SARS-CoV 親株 Fr-1 は重症肺炎誘導能を欠くが、マウス肺で Fr-1 を 10 継代した株 (Fr-mo) はその能力を持つ。pp 感染マウスでの Fr-1 株の増殖は、pp 非感染と比べ約 100 倍高い。そこで、pp 感染マウスでの継代の方がより速やかに病原性株が出現するのではないかと考え、pp 感染マウスで Fr-1 を継代した。その結果、継代 3 代で、高病原性株 (Fr-pp) が分離された。Fr-pp の S 蛋白は Fr-1、Fr-mo とは異なり、患者から分離された当初の Frankfurt 株と同一であった。本株は 3 継代で出現することから、マウスへの馴化ではなく、分与された Fr-1 株に混入していて、pp 感染の肺での増殖能が Fr-1 より高いため、分離された可能性が高い。pp 感染マウスへの Fr-pp の感染は致死的な重症肺炎を引き起こしたが、Fr-mo と同様、本株のみの単独感染では、重症肺炎を誘導することはできなかった。本株がヒトに病原性を示した株と遺伝子レベルでの類似性が高く、重症肺炎誘導能があるので、マウス以外の動物への病原性について検討したい。[田口文広、川瀬みゆき、白戸憲也、渡辺理恵、網康至\*：\*動物管理室]

### 2. SARS コロナウイルス (SARS-CoV) の細胞内感染経路の解明

## ウイルス第三部

SARS-CoV の感染には、細胞のプロテアーゼであるカテプシンが利用されると考えられている。ウイルスは、まず細胞表面のレセプターに接着し、エンドサイトーシスによりエンドソームに取り込まれる。カテプシンはエンドソーム内でウイルス表面のスパイク (S) 蛋白質を切断し、構造変化を誘導することにより、ウイルス膜とエンドソーム膜の融合を引き起こすと考えられている。しかし最近の我々の研究は、カテプシンによる S 蛋白質の切断は、膜融合を誘導する「最終的な引金」では無いことを示唆している。エンドソーム内に未知の因子があり、これが S 蛋白質を活性化する可能性がある。我々は S 蛋白質の活性化条件を詳細に調べることにより、「最終的な引金」を明らかにしたいと考えている。[松山州徳、田口文広]

### 3. ヒトコロナウイルス 229E の細胞内侵入機構に関する研究

ヒトコロナウイルス 229E 感染細胞は、SARS コロナウイルス (SARS-CoV) 同様トリプシン処理により細胞融合を引き起こすことから、細胞内侵入も SARS-CoV 同様の機構であることが示唆された。229E 感染はエンドソーム (ES) 内の酸化阻害剤の bafilomycin により抑制され、システインプロテアーゼ阻害剤により抑制されることから、その細胞内侵入機構は SARS-CoV と同様で、受容体に結合後、ES に輸送され酸性環境下で活性を持つプロテアーゼにより S 蛋白質が解裂、活性化され、細胞内に侵入することが示唆された。そこで、SARS-CoV 感染でも大きな役割を果たしている ES 内プロテアーゼのカテプシンについて検討した。siRNA を用いたカテプシン発現の抑制実験から、少なくともカテプシン L は 229E の細胞侵入に関与することが示唆された。[川瀬みゆき、白戸憲也、松山州徳、田口文広]

### 4. Respiratory syncytial virus (RSV) 感染における肥満細胞の脱顆粒の検討

重症ケースの RSV 感染症の病態悪化には Th2 免疫応答レベルの上昇が関連することが報告されており、アレルギー性疾患の病態と類似している。肥満細胞は全身組織の血管付近に広く分布しており、肥満細胞から放出される好塩基性顆粒はアレルギー性疾患でケミカルメディエーターとして働いている。肥満細胞の感染症における貢献度は不明であり、RSV 感染症でもその機能は良くわかっていない。そこで RSV 感染にお

ける肥満細胞の脱顆粒の検討を行った。培養系の肥満細胞 HMC-1 に RSV を直接接種した場合は脱顆粒が認められなかったが、RSV 感染 A549 細胞と HMC-1 を共培養したところ、RSV 感染後 3、4 日目に、HMC-1 の有意な脱顆粒が見られた。しかし RSV 感染後の A549 培養上清で HMC-1 を培養しても脱顆粒が見られないことから、HMC-1 の脱顆粒には RSV 感染 A549 細胞において発現しているなんらかの膜型分子やサイトカインの paracrine が関与している可能性が示唆された [白戸憲也、田口文広]

### 5. Respiratory syncytial virus (RSV) の肥満細胞への感染性の検討

RSV の構造蛋白である G 蛋白はフラクタルカイン (CX<sub>3</sub>CL1) と構造が近似しているため、そのレセプターである CX<sub>3</sub>CR1 と結合することが報告されている。肥満細胞は CX<sub>3</sub>CR1 を多量に発現しているため、RSV は肥満細胞へ吸着する可能性が高い。本研究ではこの可能性について検討した。肥満細胞 HMC-1 は呼吸器上皮細胞の A549 と比較して 50 倍以上の CX<sub>3</sub>CR1 mRNA を発現していたが、RSV の吸着性は A549 と同程度であった。RSV 接種 72 時間後の A549 培養上清では  $1 \times 10^5$  PFU/ml 以上のウイルス力価が検出されたが、HMC-1 では検出されず、細胞内の RSV 蛋白もフローサイトメトリーにより検出できなかった。HMC-1 への RSV 感染を促進するため spinoculation を行ったが、感染性ウイルスは検出できなかった。また HMC-1 では RSV の RNA 複製効率が極めて悪いことが明らかとなった。以上のことから、CX<sub>3</sub>CR1 は RSV の吸着性に影響を与えないこと、さらに HMC-1 細胞は RSV の複製に関するなんらかの因子を欠くことが示唆された。[白戸憲也、田口文広]

### 6. マウスコロナウイルスのスパイク (S) 蛋白質の構造変化の検出

マウスコロナウイルス MHV-2 (マウス肝炎ウイルス-2 株) の細胞侵入メカニズムは SARS コロナウイルス (SARS-CoV) と類似点が多い。両ウイルスの S 蛋白質が膜融合活性を発揮するためには、二段階の構造変化を必要とすることが予想されている。二段階とは、1) レセプターに S 蛋白質が結合すると一段階目の構造変化が起こり、2) 続いてプロテアーゼにより S 蛋白質が 2 つに切断されて二段階目の構造変化が起こることである。この二段階構造変化は細胞への感染実験から予想されたモデルであり、実際の蛋白の変化は未だ検出されて

## ウイルス第三部

いない。SARS-CoV は構造変化の検出に必要な抗体等の実験材料が不十分であるため、我々はまず実験材料が豊富で、構造変化に関する解析が進んでいる MHV を用いて、電気泳動法やリボソーム浮遊法で構造変化の検出を試みている。[ 松山州徳、田口文広 ]

### 7. ブタコロナウイルスのマウス馴化及びマウス細胞の受容体に関する研究

ブタコロナウイルス流行性下痢ウイルス(PEDV)はブタの下痢の原因ウイルスである。一般に、コロナウイルスは種特異性が高く、通常固有宿主にしか感染しないが、ニワトリやヒトのコロナウイルスを乳飲みマウス脳内で継代することによりマウスに馴化した株が得られる。本研究では PEDV を乳飲みマウスの脳内継代で、マウスに病原性をもつ馴化ウイルスが獲得できるか、病原性の変化と S 蛋白質に関連があるのか、更にマウス脳内での受容体分子は何か、を知る目的で実験を行った。PEDV の乳飲みマウスの脳での継代により、脳内での増殖が高く、臨床症状を誘導する病原性の高いマウス馴化株が得られた。また、得られた株は Vero 細胞で親株と比べ、強い CPE (細胞融合能) を示した。S 蛋白質を比較したところ、4 個のアミノ酸の変異が見られた。今後、アミノ酸変異が CPE 発現に関与するのか、また、マウス脳内での PEDV の受容体及び感染機構について解析を進めたい。[ 前嶋円、白戸憲也、平井明香\*、松山州徳、網康志\*、川瀬みゆき、田口文広 : \*動物管理室 ]

### 8. マウス系統間のマウス肝炎ウイルス感受性差に関する研究

マウス肝炎ウイルス(MHV)感受性 C57BL/6 (B6/R1)は CEACAM1a (R1)を、抵抗性 SJL は CEACAM1b (R2)を MHV 受容体として発現している。R1 は R2 と比べ、10-100 倍受容体活性が高い。両系統の MHV 感受性が受容体に依存するかを検討するため、R1 を R2 で置換した C57BL/6 (B6/R2)を作成し、B6/R1、及び SJL マウスと共に MHV-A59 を感染させ、生存率および組織中のウイルス力価を検討した。その結果、B6/R2 マウスは B6/R1 マウスと比べ MHV に対する生存率が顕著に高く、肝、脾、脳および血液中のウイルス力価は著しく低かった。また、B6/R2 マウスは、R2 を持つ SJL マウスより高い抵抗性を示した。遺伝子置換 B6/R2 の R2 蛋白質は B6/R1 の R1 蛋白質と SJL の R2 蛋白質は同程度の発現が見

られたことから、SJL と C57BL/6 の感受性差は、単に R1,R2 の受容体活性で説明できないことが明らかとなった。即ち、この対立遺伝子以外にも MHV 感受性に関与する遺伝子が存在する可能性が示唆された。[ 平井明香\*、網康至\*、山田靖子\*、田口文広 : \*動物管理室 ]

### 9. マウス脳内における神経親和性 MHV-JHM sr7 変異株の感染機構

MHV-JHM cl-2 親株 (wt) は MHV 受容体発現細胞に感染し、受容体非発現細胞へも感染拡大するが、その変異株 (sr7) は受容体依存性のみ感染し、神経病原性は wt と比べ低い。然しながら、sr7 の長期感染では、受容体発現細胞ミクログリアのみならず、非発現細胞ニューロンにも感染が認められ、感染後 1 週間程でマウスを死亡させる。本研究では、sr7 感染後 6 日目にマウス脳から分離したウイルスの受容体非依存性感染性を検討した。その結果、wt と比べ活性は低いが、受容体非依存性に感染するウイルス株が分離され、マウス脳内での受容体非依存性感染への関与が考えられた。分離株の S 蛋白質は親株 sr7 と比べ 960 番目アミノ酸がセリンからフェニルアラニンに置換されていた。以上の結果から、sr7 S 蛋白質遺伝の変異が、受容体非依存性感染能を獲得した原因である可能性が示唆された。今後、この S 蛋白質変異が受容体非依存性感染の原因なのかを培養細胞での S 蛋白質発現により検討したい。[ 野村理沙\*、渡辺里仁\*、田口文広 : \*創価大学工学部 ]

### 10. RSV の分子疫学に関する研究

気管支炎乳幼児患者から分離された RSV のうち、代表的な 17 株の Nucleoprotein(N)遺伝子に関する分子疫学解析を行った。その結果、10 株は Subgroup A、7 株は Subgroup B に分類された。N 遺伝子の Subgroup 間のホモロジーは高く、遺伝学的に近縁な RSV が関与していたことが推定された。N 遺伝子以外の遺伝子について、新たに上記以外の臨床分離株を加えて解析中である [ 野田雅博、木村博一\*、水田克巳\*\*、塚越博之\*\*\*、斎藤義弘\*\*\*\*、菅井和子\*\*\*\*\* : \*感染症情報センター、\*\* 山形県衛生研究所、\*\*\* 群馬県衛生環境研究所、斎藤義弘\*\*\*\* 東京慈恵会医科大学、\*\*\*\*\* 国立病院機構横浜医療センター ]

## ウイルス第三部

### 11. RSV のヒト化モノクローナル抗体に対する反応性に関するモニタリング

国内で分離された RSV115 株 (Subgroup A : 73 株, Subgroup B : 42) の抗 RSV ヒト化モノクローナル抗体に対する中和反応性を検討した。その結果、いずれの供試分離株も抗 RSV ヒト化モノクローナル抗体に対して  $100 \times 2^{15-16}$  倍の中和価が得られ、Subgroup 間で差は認めなかった [野田雅博、木村博一\*、水田克巳\*\* : \*感染症情報センター、\*\*山形県衛生研究所]

### 12. hMPV の分子疫学に関する研究

東日本地方において分離された hMPV146 株について Fusionprotein(F)遺伝子に関する分子疫学解析を行った。その結果、2004 年の流行は genotype B2 の単一型、2005 年は genotype A2, B1 および B2 の複数型、2006 年および 2007 年はいずれも genotype A2 および B2 の複数型の流行であったことが明らかになった [野田雅博、水田克巳\*、木村博一\*\* : \*山形県衛生研究所、\*\*感染症情報センター]

### 13. パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子の機能

パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子である V や C 蛋白質について、最近、セグダイウイルス(SeV)の C 蛋白質、ムンプスウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス 2 型、麻疹ウイルスの V 蛋白質がインターフェロン(IFN)を阻害し、細胞が抗ウイルス状態になるのを妨げていることが明らかになってきた。そこで、その効果をセグダイウイルスの V 蛋白質を持続的に発現する細胞を使って調べたところ、発現細胞では転写因子 IRF-3 の転写促進効果が低下していることが明らかになった。 [加藤篤、久保田耐、田代真人、永井美之\* : \*理化学研究所]

### 14. I 型インターフェロン産生制御に関わる翻訳後修飾機構

ムンプスウイルスを含む、マイナス鎖 RNA をゲノムにもつウイルスの感染は、Toll 様受容体ファミリーあるいは、RIG-I/MDA5 などの RNA ヘリカーゼモチーフを持つ分子によって、宿主細胞に認識され、I 型インターフェロンを含む種々のサイトカイン産生を誘導する。このようなサイトカイン産生を制御する宿主転写因子及び情報伝達因子のタンパク質翻訳後修飾系について検討を行った。この結果、ユビキチン様修飾因子 SUMO による修飾が I 型インターフェロン産生制御に関与することが明らかとなった。 [久保田耐、加藤篤、田代

真人、久保田真由美\*、佐々木次雄\*、張賢聡\*\*、尾里啓子\*\* : \*細菌第 2 部、\*\*米国 NIH]

## サーベイランス業務

### 1. 風疹の流行予測調査

風疹は感染症流行予測調査の対象疾患であるため、風疹感受性調査のための標準血清 (HI 抗体陽性血清並びに陰性血清) を用意し感染症情報センターを通じて 16 都県に配布した。また、地方衛生研究所からの抗体調査結果を解析し、報告書にまとめた。 [大槻紀之、感染症情報センター、駒瀬勝啓]

## 品質管理に関する業務

### 1. インフルエンザ HA ワクチンの力価試験の精度管理及び規格確認

インフルエンザ HA ワクチンは毎年ワクチン株が見直しされるため、ワクチンの国家検定の力価試験として実施されている一元放射免疫拡散試験の測定精度が一定の範囲内にあるように毎年確認して調整する必要がある。また、マウス白血球数減少試験や蛋白質含量試験において生物製剤基準の許容範囲の上限に近いために、毎年のワクチンが規格に適合しているのか確認する必要がある。そこで、本年も各ワクチン製造所で試作されたワクチンについて測定を実施して規格に適合していることを確認するとともに、各製造所の測定値との乖離について検討した。さらに参照インフルエンザ HA ワクチンを使用して各試験の測定精度についての検討を実施した。 [板村繁之、河野直子、田中明子\*、布施晃\*、落合雅樹\*\*、堀内善信\*\*、小田切孝人、田代真人 : \*血液安全性研究部、\*\*細菌第 2 部]

### 2. 風疹ワクチン中間段階、3 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン 1 ロット、弱毒乾燥生風しん風しん混合ワクチン 60 ロットの検定を行った。 [大槻紀之、岡本貴世子、駒瀬勝啓]

### 3. 麻疹ワクチン中間段階、3 ロット、乾燥弱毒生麻疹ワクチン 5 ロット、弱毒乾燥生麻疹風しん混合ワクチン 60 ロットの検定を行った。 [染谷健二、關文緒、菅井敏行]

### 4. おたふくかぜワクチンの小分け製品 10 ロット並びに同中間段階 1 ロットの検定を行ったところ、規格試験を満たし

## ウイルス第三部

ており、また添付された書類の精査結果にも問題が無かったため合格とした。[久保田耐、木所稔、加藤篤]

5. インターフェロン製剤 12 ロット( -2b 3 ロット、peg -2b 3 ロット、aLys 3 ロット、 -con 1 ロット、天然型 1 ロット、天然型 1 ロット)の収去検査を行った。[白戸憲也、田口文広]

### レファレンス業務

#### 1. 動物インフルエンザウイルス系統保存における共同研究

新型インフルエンザウイルスの出現時に、それに抗原性が近似したワクチン製造株を速やかに供給できるように、15 種類の HA 亜型のウイルスの収集・系統的分類およびそれらに対する抗血清の作製を完了した。本年度も地方衛生研究所の協力の下、8 株の A 型インフルエンザウイルス(H5N2、H6N2)が野鳥から分離された。これらの分離株は、抗原性状と遺伝子性状が解析された後、感染研の動物インフルエンザウイルスバンクに保管された。[岸田典子、影山努、今井正樹、白倉雅之、小田切孝人、田代真人]

#### 2. 日本のブタへの新型インフルエンザウイルスの侵入監視

新型インフルエンザ出現の中間宿主として考えられているブタでのインフルエンザウイルスの流行を監視するために、15 地区の地方衛生研究所に依頼して、ブタにおけるウイルス分離調査を行った。ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種したところ、1443 検体中 3 検体から A 型インフルエンザウイルスが分離された。HI 試験を用いて分離ウイルスの亜型を同定した結果、いずれの株もブタの間で常在している H3 亜型ウイルスであることが判明した。したがって、現時点では鳥インフルエンザウイルスは確認されておらず、我が国のブタには新型ウイルスの侵入の形跡は認められなかった。[岸田典子、影山努、今井正樹、白倉雅之、小田切孝人、田代真人]

#### 3. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための標準抗原・参照抗血清の作製

平成 19 年度のインフルエンザ HA ワクチンに使用するワクチン株である A/Solomon Islands/3/2006(H1N1)(IVR-145)、A/Hiroshima/52/2005(IVR-142)(H3N2)、B/Malaysia/2506/2004 の 3 株について国家検定の力価試験

に使用する参照抗インフルエンザ HA 抗血清と標準インフルエンザ HA 抗原(一元放射免疫拡散試験用)を作製した。標準インフルエンザ HA 抗原に含有される HA 抗原の含有量の設定を、英国、豪州の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、TGA と協力して国際的な標準に基づいて実施した。また、海外の標準抗原の抗原量の設定についても同様に協力を行った。[板村繁之、河野直子、小田切孝人、田代真人]

#### 4. サーベイランスにおけるウイルス保存輸送液、培養器の評価

病原体サーベイランスを効率的に実施するため、試料の採取保存に用いるためのウイルス保存輸送液およびスワブ採取セット(UTM; Ultra transportation medium & Flocked swab kit, Copan)およびウイルス分離増殖に用いる JM cell culture tube(SRAS Berhad)について活用の可否を検討した。UTM は供試したいずれのウイルス(ヒトヘルペスウイルス、RSV、InfV、アデノウイルスおよび RV)に対しても保存期間中のウイルス感染価低下は 0.5 log 未満であり、条件別保存可能期間は室温(22 )では 3~7 日間、4 では 6~7 日間を示した。Flocked swab は表面構造が繊維毛ブラシ状で被験者挿入時に与える違和感も小さくかつ合成素材であることから遺伝子検査にも適しており病原体サーベイランスへの活用は推奨される。

JM cell culture tube は閉鎖系の培養器であるためバイオセーフティ等では優れているが、使用培養細胞によっては増殖、維持培養が困難であること、形状が鏡検に不適であること等の理由から活用を積極的に推奨する事由はみいだせなかった。[野田雅博、木村博一\*、大内好美\*\*、横井一\*\*\*、五十嵐郁美\*\*\*\*、七種美和子\*\*\*\*\*、川上千春\*\*\*\*\*: \*感染症情報センター、\*\*滋賀県衛生科学センター、\*\*\*千葉市環境衛生研究所、\*\*\*\*福島県衛生研究所、\*\*\*\*\*横浜市衛生研究所]

5. ARI ウイルス検査に伴う標準品の供給体制を構築するため、RSV、RV、PIV、hMPV のそれぞれの標準株および国内臨床分離株を増殖および遺伝子情報を解析しレファレンス参照株として保存した。あわせてそれぞれのウイルス増殖に適した各種株化細胞を保存した。ウイルス株の血清学的同定に用いる標準抗血清はそれぞれのウイルスが血清学的に多型であること、多くの機関において遺伝子解析が日常的に実施可能で

## ウイルス第三部

あることなどから、遺伝子情報のジーンバンクへの登録、プロープの作成等を優先して実施中である。[野田雅博、木村博一\*、水田克巳\*\*：\*感染症情報センター、\*\*山形県衛生研究所]

### 6. 病原体検出マニュアルの作成

病原体検出マニュアル「ヒトメタニューモ編」を作成した [野田雅博、木村博一\*、水田克巳\*\*、塚越博之\*\*\*：\*感染症情報センター、\*\*山形県衛生研究所、\*\*\*群馬県衛生環境研究所]

## 国際協力関係業務

### 1 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスの実験室内診断と国際協力

2003 年未から東南アジア地域を中心に高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザ(H5N1-HPAI)が再流行し、感染地域はさらに中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へと拡がりをみせている。東南アジアなど多くの流行国では、病死した鳥との濃厚接触により感染する例が多く、これまでに 14 カ国で 350 人以上の感染例と 200 人以上の死亡例が確認されており、これに起因した新型インフルエンザウイルスの出現とそれによる世界的な汎流行が危惧されている。当室は、WHO-H5 レファレンス診断ラボに指定されていることから、ラオス、ミャンマーなどの東南アジア諸国より H5 ウイルス感染が疑われる患者検体を受け入れ、培養細胞および発育鶏卵を使ったウイルス分離、リアルタイム RT-PCR 法によるウイルス遺伝子検出などの病原学的診断を行った。これら診断結果は検体送付国と WHO に逐一報告され、当該国での新型インフルエンザ対策に役立てられた。一方、臨床検体から分離された高病原性鳥インフルエンザウイルスについては、詳細な抗原解析と遺伝子解析が行われた。また、WHO-H5 ネットワークから随時海外分離株を入手し、同様に解析を行った。これら解析情報は随時 WHO-H5 ネットワーク間で交換され、プロトタイプワクチン株の選定や抗インフルエンザ薬耐性株の資料として活用された。[影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、氏家誠、望月菊、板村繁之、原田勇一、河野直子、小淵正次、高井弘美、島袋梢、小田切孝人、田代真人]

### 2. ラオスナショナルインフルエンザセンター (NIC) 構築へ

### 向けた国際協力

ラオス国立感染症疫学研究所は WHO から NIC として承認されていない。したがって、インフルエンザ株サーベイランス体制の構築、諸外国のサーベイランス情報など WHO-GISN からの支援を受けられない。そこで、今年度から NIC として承認されるために、国内におけるサーベイランス網の充実、WHO 協力センターとの交流を積極的に進めている。感染研は、H5N1 鳥インフルエンザ診断検査において当該研究所と交流があり、現地スタッフへの研修や技術支援をしてきた。このような経緯から、現地へ赴き、当該研究所の NIC 承認にむけたコンサルテーションおよびインフルエンザウイルス分離施設の構築、培養細胞系の構築などのための助言と技術指導を行った。[小田切孝人]

### 3. ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)における高危険度病原体の実験室診断能力強化への技術支援

ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)において国際協力機構(JICA)が実施している BSL3 実験室の供与と技術移転のプロジェクトに、平成 19 年 7 月 22 日から 8 月 4 日、平成 20 年 1 月 6 日から 1 月 19 日の二回にわたって参加し、高病原性鳥インフルエンザの実験室診断を安全に信頼性の高いレベルで実施するための技術支援を行った。[板村繁之]

### 4. 台湾中華民国衛生署薬物食品検査局(BFDA)におけるインフルエンザワクチンの品質管理に関する国際協力

平成 19 年 12 月 2 日から 6 日まで台湾衛生署薬物食品検査局を訪問して、インフルエンザワクチンの力価試験などの試験方法や品質管理に関する問題点について講演を実施し、インフルエンザワクチンの品質管理に関する問題点や課題などについて討論を行った。[板村繁之、\*堀内善信：\*細菌第 2 部]

### 5. WHO による鳥インフルエンザウイルスに対する中和抗体測定法の標準化共同研究への参加

新型インフルエンザワクチンの効果判定のひとつの指標として中和抗体価があるが、その手技は標準化されておらず測定値の一致度についても充分には検証されていない。WHO ではワクチン効果判定や血清学的診断を標準化するために中和抗体測定法に関する国際共同研究を実施し、当研究室も手技の国際的な標準化のために参加した。[板村繁之、河野直子、原田勇一、小田切孝人、田代真人]

## ウイルス第三部

### 6. 鳥インフルエンザウイルスに対する中和抗体測定法の技術研修

インドネシア保健省研究開発センター(NIHRD)から2名の研究者を平成19年8月26日から9月29日、および平成20年2月24日から3月30日まで受け入れ、鳥インフルエンザA/H5N1ウイルスに対する中和抗体測定法の技術研修を実施し、インドネシアのヒト血清について中和抗体の測定を行った。[板村繁之、河野直子、原田勇一、小田切孝人、田代真人]

7. 5<sup>th</sup> Global measles and Rubella Laboratory network meetingに参加し、日本の風疹ウイルスの分子疫学についての発表を行うとともに、開発途上国における診断法、検体輸送法、精度管理等に関して議論した。[駒瀬勝啓]

### 8. Vero/hSLAM 細胞の分与

WHOの西太平洋地域(WPRO)のRegional Reference Laboratory(RRL)として麻疹ウイルス野生株分離用細胞のVero/hSLAM細胞を、求めに応じて国内外の研究施設に分与している。[關文緒、菅井敏行、沼崎啓、田代真人]

### 9. WHO 西太平洋地域諸国における麻疹サーベイランスへの協力

WHO、WPROのRRLとして、各国より送られてきた臨床検体からのウイルス分離とその分離ウイルスの遺伝子型解析、並びに抗麻しん抗体の検出を行っている。[染谷健二、關文緒、菅井敏行、沼崎啓、田代真人]

## 研修業務

### 1. 検疫所職員への高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修

国内における新型インフルエンザ対策の一環として、主要検疫所13ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、Real-time PCRおよびLAMP検査を中心とした高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修を行った。また、研修後はそれぞれの検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で発揮されるように連携の強化が図られた。[影山努、今井正樹、氏家誠、田代真人、小田切孝人]

2. JICA、中国国別研修「中国予防接種行政」の一環として、「麻疹、風疹」の講義を行った。[駒瀬勝啓]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Ujike, M., Nishikawa, H., Otaka, A., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Matsuoka, M., Kodama, E., Fujii, N. and Taguchi, F. :Heptad repeat-derived peptides block the protease-mediated direct entry from cell surface of SARS coronavirus but not entry via endosomal pathway. *J.Virol.* 82: 588-592 (2008)
- 2) Imai M., Kawasaki K., and Odagiri T. Cytoplasmic domain of influenza B virus BM2 protein plays critical roles in production of infectious virus. *J. Virol.*82: 728-739 (2008)
- 3) Ichinohe T, Nagata N, Strong P, Tamura SI, Takahashi H, Ninomiya A, Imai M, Odagiri T, Tashiro M, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Prophylactic effects of chitin microparticles on highly pathogenic H5N1 influenza virus. *J Med Virol.* 79: 811-819 (2007)
- 4) Darmma .B, Klimov. A, Odagiri .T, Burma .A, Tsatsral.S, Naranbold.N, Enkhsaikhan .D, Nymadawa. P. Characteristics of influenza virus epidemic strains in 2005-2006 season in Mongolia. *Mongolia J. Infect. Dis. Res.* 14: 2-6 (2007)
- 5) Ichinohe T, Tamura S, Kawaguchi A, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Mitchell WM, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Cross-Protection against H5N1 Influenza Virus Infection Is Afforded by Intranasal Inoculation with Seasonal Trivalent Inactivated Influenza Vaccine. *J Infect Dis.* 196:1313-1320 (2007)
- 6) Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C(12)U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. *Microbes Infect.* 9:1333-1340 (2007)
- 7) Imai .M, Ninomiya .A, Minekawa .H, Notomi .T, Ishizaki .T, Van Tu .P, Tien. T. K .N, Tashiro.M, and Odagiri .T Rapid diagnosis of H5N1 avian influenza virus infection by newly developed influenza H5 hemagglutinin gene-specific Loop-Mediated Isothermal Amplification method *J.Virol. Method* 141: 173-180 (2007)

### ウイルス第三部

- 8) Ninomiya, M. Imai, M. Tashiro and T. Odagiri Inactivated influenza H5N1 whole-virus vaccine with aluminum adjuvant induces homologous and heterologous protective immunities against lethal challenge with highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses in a mouse model. *Vaccine* 25: 3557-3560 (2007)
- 9) Murayama, R., Harada, Y., Shibata, T., Kuroda, K., Hayakawa, S., Shimizu, K., Tanaka, T. :Influenza A virus non-structural protein 1 (NS1) interacts with cellular multifunctional protein nucleolin during infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 362: 880-885 (2007)
- 10) Nagata, N., Iwata N., Hasegawa, H., Sato, Y., Morikawa, S., Saijo, M., Itamura, S., Saito, T., Ami, Y., Odagiri, T., Tashiro, M., Sata, T. : Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. *Int. J. Exp. Path.* 88: 403-414 (2007)
- 11) Haga T, Murayama N, Shimizu Y, Saito A, Sakamoto T, Morita T, Komase K, Nakayama T, Uchida K, Katayama T, Shinohara A, Koshimoto C, Sato H, Miyata H, Katahira K, Goto Y. Analysis of antibody response by temperature-sensitive measles vaccine strain in the cotton rat model. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* Feb 2 (Epub) (2008)
- 12) Momose F, Kikuchi Y, Komase K, Morikawa Y. Visualization of microtubule-mediated transport of influenza viral progeny ribonucleoprotein. *Microbes Infect.* 9: 1422-1433 (2007)
- 13) Fujino M, Yoshida N, Kimura K, Zhou J, Motegi Y, Komase K, Nakayama T. Development of a new neutralization test for measles virus. *J Virol Methods.* 142: 15-20 (2007)
- 14) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. *Vaccine* , 25: 3101-3104 (2007)
- 15) Homma K, Numazaki K. The steam humidifier hand burn in infants. *Int Med J.* 6:1 (2007)
- 16) Goto T, Kimura H, Numazaki K, Akiyama M, Kato M, Noda M, Nozaki Y, Tanaka-Taya K, Taniguchi K, Yamagata T, Nishio O, Oogane T, Momoi MY, Okabe N. A case of meningoencephalitis associated with human G1P [8] rotavirus infection in a Japanese child. *Scand J Infect Dis.* J, 39: 1067-1081 (2007)
- 17) Asanuma H, Numazaki k. Intrauterine dual infection with cytomegalovirus and Chlamydia trachomatis. *Eur J Gen Med.* 4: 199-200 (2007)
- 18) Numazaki K. Current concepts of management for congenital cytomegalovirus infection. *Trends in Developmental Biology.* 2:1-11 (2007)
- 19) Kato, A., Kiyotani K., Kubota T., Yoshida T., Tashiro M., Nagai Y., Importance of anti-interferon capacity of the Sendai virus C protein for pathogenicity in mice *J. Virol.* 81:3264-3271 (2007)
- 20) Kiyotani, K., Sakaguchi T., Kato A., Nagai Y., Yoshida T., Paramyxovirus Sendai virus V protein counteracts innate virus clearance through IRF-3 activation, but not via interferon, in mice. *Virology.* 359:82-91 (2007)
- 21) Tailor P, Tamura T, Kong HJ, Kubota T, Kubota M, Borghi P, Gabriele L, and Ozato K. The feedback phase of type I interferon induction in dendritic cells requires interferon regulatory factor 8. *Immunity.* 27:228-239 (2007)
- 22) Ozato K, Tailor P, and Kubota T. The interferon regulatory factor family in host defense: mechanism of action. *J Biol Chem.* 282:20065-20069 (2007)
- 23) Kitabatake M, Inoue S, Yasui F, Yokochi S, Arai M, Morita K, Shida H, Kidokoro M, Murai F, Le MQ, Mizuno K, Matsushima K, Kohara M., SARS-CoV spike protein-expressing recombinant vaccinia virus efficiently induces neutralizing antibodies in rabbits pre-immunized with vaccinia virus. *Vaccine.* 25: 630-637 (2007)
- 24) Ami Y, Nagata N, Shirato K, Watanabe R, Iwata N, Nakagaki K, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S and Taguchi F :Co-infection of respiratory bacterium with SARS coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. *Microbiol. Immunol.* 52: 118-127 (2008)
- 25) Watanabe R, Sawiki S, and Taguchi F :Heparan sulfate is a binding molecule but not a receptor for ,CEACAM1-independent infection of murine coronavirus. *Virology* 366: 16-22 (2007)
- 26) Fukushi S, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Taguchi F, Yokoyama M, Kurane I and Morikawa M. :Amino acid substitutions in S2 region enhances SARS-CoV infectivity in rat ACE2-expressing cells. *J. Virol.* 81:10831-10834 (2007)

## ウイルス第三部

- 27) Shirato K, Momotani E, Takata M, Sekikawa K, and Taniguchi T. :Tumor necrosis factor alpha is not a pathogenic determinant in acute lethal encephalitis induced by a highly neurovirulent strain of mouse hepatitis virus. Arch. Virol. 153:549-553 (2008)
- 28) Taguchi F. Entry mechanism of murine and SARS coronaviruses; similarity and dissimilarity. In Structure-based Study of Viral Replication. Eds. by Holland Cheng and Tatsuo Miyamura. pp World Scientific Publishing. 77-90 (2008)
- 29) Shirato K, and Mizutani T. Hayashi T.(ed.). Viral proteins, host cell proteins, and manipulation of the cell cycle by viruses. Progress in Cell Growth Research, Nova Science Publishers, Inc., New York, USA. in press (2008)
- 30) Goto T, Kimura H, Numazaki K, Akiyama M, Kato M, Noda M, Nozaki Y, Tanaka-Taya K, Taniguchi K, Yamagata T, Oogane M, Okabe N. A case of meningoencephalitis associated with G1P[8] rotavirus infection in a Japanese infant. Scandinavian J. Infect. Dis. 39: 1067- 1070 (2007)
- 31) Morita Y, Suzuki T, Shiono M, Shiobara M, Saitoh M, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Ishioka T, Kato M., Kozawa K, Tanaka -Taya K, Yasui Y, Noda M, Okabe N, Kimura H. Phylogenetic analysis of nucleoprotein(N) gene in measles viruses prevalent in Gunma, Japan, in 2007. Jpn. J. Infect. Dis., 60: 402- 404 (2007)
- 32) Morita Y., Kogyre H., Sandoh M., Kawashima G., Sato Y., Nanba S., Shoda Y., Suzuki T., Shiono M., Kato M., Kozawa K., Noda M., Okabe N., Kimura H.: An imported case of dengue fever virus type 3 infection in gunma, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 61:90-92 ( 2008 )
2. 和文発表
- 1) 小田切孝人：わが国におけるインフルエンザ対策の現状と問題点 Progress in Medicine 27: 2253-2257.2007
- 2) 小田切孝人：インフルエンザ流行株の分析とワクチン株の選定 治療学 41：1017-1021.2007
- 3) 駒瀬勝啓：麻疹と麻疹ウイルス(measles virus). 診療研究、431:10-16. 2007
- 4) 駒瀬勝啓：風疹ワクチンの効果と再感染、臨床とウイルス、36(1):32-38. 2008
- 5) 沼崎啓：医薬品各条 乾燥弱毒生麻疹ワクチン. 渡辺治雄編.生物学的製剤基準解説 2007 年版.東京、(株)じほう、140-148. 2007,
- 6) 沼崎啓：医薬品各条 弱毒生麻疹おたふくかぜ風しん混合ワクチン. 渡辺治雄編.生物学的製剤基準解説 2007 年版.東京、(株)じほう 149-151. 2007,
- 7) 沼崎啓：サイトメガロウイルス. 岡部信彦編. 小児感染症学. 東京、診断と治療社 373-378. 2007
- 8) 沼崎啓：麻疹ウイルス株の遺伝子解析. 病原微生物検出情報 28:244-245. 2007
- 9) 沼崎啓：RSウイルス感染症. 感染と抗菌薬 10:365-369. 2007
- 10) 狩山雅代、野口秀樹、吉田永祥、内野清子、三好龍也、松尾光子、田中智之、藤井史敏、阪本瑠子、武内一、片桐真二、西垣正憲、沼崎啓：麻疹家族内感染事例とその対応. 堺市.病原微生物検出情報 28: 147-149. 2007
- 11) 加藤篤、清谷克寛：センダイウイルス感染と宿主自然免疫 蛋白質核酸酵素 52:1194-1199 2007
- 12) 加藤篤、清谷克寛：自然免疫とセンダイウイルスアクセサリー蛋白質 臨床とウイルス 35:12-20 2007
- 13) 木所稔：おたふくかぜの再感染と vaccine failure の基礎 臨床とウイルス 36:39-49 2008
- 14) 田口文広：重症急性呼吸器症候群 (SARS) 分子呼吸器病 第11巻 第1号 42-47 2007
- 15) 田口文広：川崎病とウイルス感染 小児科 第43巻 第10号 1411-1416 2007
- 16) 木村博一、石岡大成、野田雅博、加藤政彦：喘息とRSウイルス感染症—ウイルス学的・免疫学的検討—：小児科、48(13)、1921- 1928 2007
- 17) 大内好美、田中千香子、横井一、秋山美穂、木村博一、野田雅博、田代真人：市販ウイルス保存輸送液およびスワブ採取キットの評価 臨床とウイルス 36(1) 61- 64 2008
- . 学 会 発 表
1. 国際学会
- 1) Ujike, M., Nishikawa, H., Otaka, A., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Matsuoka, M., Kodama, E., Fujii, N. and Taguchi, F. :Heptad repeat-derived peptides block the protease-mediated direct entry from cell surface of SARS coronavirus but not entry via endosomal pathway The Awaji

## ウイルス第三部

- International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan.  
Sep 1-5. 2007
- 2) Imai, M., Kawasaki, K., and Odagiri, T.: The cytoplasmic domain of influenza B virus BM2 protein plays critical roles for the production of influenza virus. Options for the Control of Influenza VI, Tronto, June, 2007
  - 3) CA Russell, TC Jones, IG Barr, NJ Cox, K Fukuda, V Gregory, I Gust, AW Hampson, AJ Hay, AC Hurt, JC de Jong, AI Klimov, AS Lapedes, YP Lin, A Mosterin, T Odagiri, ADME Osterhaus, GF Rimmelzwaan, MW Shaw, E Skepner, K Stohr, M Tashiro, WQ Zhang, RAM Fouchier, DJ Smith Global patterns in the evolution and epidemiology of influenza A(H3N2) virus from 2002 to 2007. Options for the Control of Influenza VI, Tronto, June, 2007
  - 4) Odagiri, T. : International support for influenza surveillance and control in Lao PDR. NIC review Meeting at Vientiane, Lao PDR. Oct. 2007
  - 5) Odagiri, T. : Update of influenza surveillance information and vaccine strain selection-Northern and Southern Hemisphere. NIC review Meeting at Vientiane, Lao PDR. Oct. 2007
  - 6) Takeuchi, K., Ninomiya, K., Komase, K., Nakayama, T., and Nagata, K.: Reverse genetics of mumps virus Hoshino vaccine strain Workshop on Replication and Cell Biology of Negative Strand RNA Viruses. Evanston, Illinois, USA. Sep.15-19, 2007
  - 7) Numazaki K. Current strategies of measles elimination in western pacific region. 5th World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases, Bangkok, Thailand, Nov. 15-18, 2007
  - 8) Taguchi F : Protease-mediated entry of SARS-CoV from cell surface: implication in pathogenesis. Christophe Merieux Conference: Trends in Virology. Veyrier du Lac, June 24-26, 2007
  - 9) Taguchi F, Nagata N, Iwata N., Ami Y. Severe respiratory disease of mice co-infected with SARS-CoV and respiratory bacterium. 26<sup>th</sup> ASV annual meeting. Corvallis, Oregon, July 14-18, 2007
2. 国内学会
    - 1) 小田切孝人、小淵正次、影山努、板村繁之、今井正樹、二宮愛、氏家誠、田代真人：2006/07 シーズンのインフルエンザ流行株と平成 19 年度のワクチン株 第 55 回日本ウイルス学会・総会、札幌、2007 年 10 月
    - 2) 川上千春、小淵正次、七種美和子、野口有三、小田切孝人、田代真人：インフルエンザ市中流行株における NA 阻害薬耐性 A 型ウイルスの解析 第 55 回日本ウイルス学会・総会、札幌、2007 年 10 月
    - 3) 影山努、今井正樹、二宮愛、氏家誠、田代真人、小田切孝人：Real-time RT-PCR 法による H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス核酸検出系の構築 第 55 回ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月
    - 4) 今井正樹、影山努、氏家誠、納富継宣、峯川晴美、田代真人、小田切孝人：Lamp (loop-mediated isothermal amplification)法による H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス遺伝子検出系の開発 II 第 55 回ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月
    - 5) 田口文広、氏家誠 :SARS コロナウイルス スパイク(S) 蛋白の Heptad Repeat(HR)由来 Peptide による細胞表面からのウイルス侵入の抑制 平成 19 年度科研費特定領域「感染現象のマトリックス」第 4 回全体会議、2008 年 1 月
    - 6) 藤井信孝、大石真也、西川祐輝、渡部毅、大野章浩、氏家誠、田口文広、児玉栄一、松岡雅雄：ケミカルバイオロジを基盤とする新興・再興ウイルス侵入阻害剤の開発研究 第 4 回ケミカルバイオロジーシンポジウム、2008 年 2 月
    - 7) 池野大介、来海和彦、工藤康博、後藤修郎、板村繁之、小田切孝人、田代真人、城野洋一郎：マウスにおけるプレパンドミックワクチンによるプライミング効果の検討 第 11 回日本ワクチン学会、横浜、2007 年 12 月
    - 8) 海野幸子、大槻紀之、庵原俊昭、浅野喜造、岡田賢司、田代真人、駒瀬勝啓：風疹標準パネル血清候補の評価：中和抗体価に関して、第 48 回日本臨床ウイルス学会、富山、2007 年 6 月
    - 9) 二宮健吾、中山哲夫、駒瀬勝啓、竹内薫、永田恭介：ムンプスウイルス星野株のリバースジェネティクス系構築、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年

### ウイルス第三部

- 10月
- 10) 樋口彰、駒瀬勝啓、中山哲夫：SSPE（亜急性硬化性全脳炎）ウイルスの細胞融合能の解析、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 11) 澤田成史、駒瀬勝啓、中山哲夫：RSウイルスの外殻蛋白を発現するキメラ麻疹ウイルスの作製、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 12) 坂田真史、駒瀬勝啓、中山哲夫：弱毒麻疹生ワクチン：KRT株が示す温度感受性を担うゲノム領域の同定、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 13) 百瀬文隆、菊池雄士、駒瀬勝啓、森川裕子：新規抗インフルエンザウイルスNPモノクローナル抗体による粒状抗原の可視化、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 14) 大倉喬、菊池雄士、駒瀬勝啓、百瀬文隆、森川裕子：H5N1型高病原性トリインフルエンザウイルスHAに結合する中和モノクローナル抗体のエピトープ解析、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 15) 大槻紀之、田代真人、駒瀬勝啓：風しんワクチン株の全塩基配列の決定とワクチン品質管理への応用、第11回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007年12月
- 16) 佐藤弘、多屋馨子、駒瀬勝啓、田代真人、岡部信彦：わが国における麻疹及び風疹の対する抗体保有状況(2006年感染症流行予測調査より)、第11回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007年12月
- 17) 齊藤暁、峯雄太、駒瀬勝啓、中山哲夫、宮田博規、後藤義孝、芳賀猛：コットンラット肺細胞における野生株麻疹ウイルスの馴化、第145回日本獣医学会学術集会 神奈川県相模原麻布大学、2008年3月
- 18) 樋口彰、駒瀬勝啓、中山哲夫：RSV、インフルエンザウイルス抗原を発現する組換え麻疹ワクチンAIK-C株の樹立 澤田成史、予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究・ワクチンの有効性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究、東京、2008年3月
- 19) 坂田真史、駒瀬勝啓、中山哲夫：風疹ワクチン高橋株のp150タンパクの1042位のHisが温度感受性を規定する、予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究・ワクチンの有効性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究、東京、2008年3月
- 20) 牛島廣治、早川有子、駒瀬勝啓：母乳の風疹ウイルス中和活性能に関する研究、予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究・ワクチンの有効性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究、東京、2008年3月
- 21) 加藤篤、清谷克寛、久保田耐、坂口剛正、吉田哲也、田代真人、宿主細胞の自然免疫反応に対するセンダイウイルスV蛋白質の影響、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 22) 木須友子、岡本道子、山田堅一郎、堀亨、矢野寿一、渡邊王志、久保田耐、木所稔、近江彰、加藤篤、西村秀一、センダイウイルスC蛋白遺伝子導入による低インターフェロン感受性-高ウイルス感受性HEp-2細胞作出の試み、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 23) 中垣慶子、野村理沙、渡辺里仁、田口文広：マウス肝炎ウイルスMHV-JHM変異株srr7のマウス脳分離細胞での受容体非依存性感染拡大のメカニズムに関する研究 第11回神経ウイルス研究会、草津、2007年7月
- 24) 野村理沙、渡辺里仁、田口文広：JHMOV srr7のマウス脳内における感染の広がり 第11回神経ウイルス研究会、草津、2007年7月
- 25) 白戸憲也、川瀬みゆき、田口文広：ヒトコロナウイルス(HCoV)229Eのスパイク(S)蛋白をもつVSVシュードタイプウイルスの作製とHCoVの細胞侵入機構解析 第55回日本ウイルス学会総会、札幌、2007年10月
- 26) 高月英恵、野村理沙、田口文広、渡辺里仁：srr7のマウス脳内における感染の広がり 第55回日本ウイルス学会総会、札幌、2007年10月
- 27) 野村理沙、渡辺里仁、田口文広：マウス脳内におけるsrr7の変異に寄る感染拡大 第55回日本ウイルス学会総会、札幌、2007年10月
- 28) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲朗、田代真人、田口文広：高度弱毒化ワクチニアウイルス株DIsの組み換えSARSワクチンとしての検討 第55回日本ウイルス学会総会、札幌、2007年10月

## ウイルス第三部