

20. インフルエンザウイルス研究センター

センター長 長谷川 秀樹

概要

当センターは、インフルエンザウイルスに関する研究・開発業務及び国の新型インフルエンザ対策への支援と緊急対応体制の維持強化、WHO インフルエンザ協力センターとして海外流行株情報の収集機能の強化、アジア地域と連携したサーベイランス網の活性化と、技術支援および世界インフルエンザ監視対応体制 (GISRS) の運営にコアメンバーとして参画、WHO および国内インフルエンザワクチン株の選定、ワクチン製剤の品質管理体制の維持と改善などをめざして、6 室体制 (第一室(ウイルスサーベイランス)、第二室(診断検査、国内外研修)、第三室(ワクチン製剤品質管理、GMP 管理)、第四室(季節性・新型ワクチン製造株の開発)、第五室(細胞培養ワクチン開発)、第六室(経鼻接種ワクチン開発))で業務、研究活動を行っている。

人事異動では、令和 2 年 4 月 1 日、佐藤佳代子が主任研究官に昇任した。桑原朋子、齋藤慎二の任期を延長した。

研究開発業務としては、季節性ワクチン製造株開発のため、国内の医療機関から提供された臨床検体から、鶏卵を用いてウイルス(親株)を分離し、WHO のワクチン製造株開発機関に送付した。提供した親株から開発された高増殖リアソータントウイルスについて、ワクチン製造株候補としての妥当性を評価した。また新型コロナウイルス対策として S タンパク質変異ウイルス検出系を構築し、全国での変異株検出に貢献した。全所対応として新型コロナウイルス感染症疑い患者検体の確認検査を行った。

ワクチンに関する研究としては、ワクチン接種後のヒト血清抗体と流行株との反応性を評価した human serology を毎年継続し、WHO ワクチン株選定に貢献した。4 価ワクチンの力価測定のために、交差反応性のないモノクローナル抗体を採用した測定法を開発し、その有用性を検証した。また、近々にわが国に導入実用化が予定されている経鼻弱毒生ワクチンの力価測定法の開発を進めた。さらに細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けて、細胞培養ワクチン製造株の開発、細胞培養ワクチン中の HA 抗原量測定

法の開発を進めた。次世代ワクチンとして期待されている経鼻粘膜ワクチンの抗体応答の評価法の開発にも取り組んだ。

流行動向調査(サーベイランス)およびレファレンス業務では、地衛研、感染症疫学センターと連携して、国内および周辺諸国から流行株を収集し、それらの抗原性・遺伝子解析、薬剤感受性試験などを実施し、解析結果を地衛研および周辺諸国へ還元した。また感染症疫学センターHP を通じて情報還元した。これらの解析情報をもとに次シーズン向けのワクチン候補株の検索を行い、WHO ワクチン推奨株や海外情報も考慮して令和二年度のワクチン株の選定を行った。前年度に引き続き、インフルエンザワクチン力価測定用の標準試薬(抗原、抗血清)を製造し、国際標準化を行った。それらはワクチンの国家検定の標準品として採用された。国内に持ち込まれた携帯品非加熱家禽肉から分離された鳥インフルエンザウイルス(H5 亜型)、およびネパール国においてヒトから分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1 亜型)の遺伝子解析及び抗原性解析を行い、WHO インフルエンザワクチン株選定会議資料として提出した。

国際協力関係では、世界インフルエンザ監視対応体制 (GISRS) の基幹である WHO インフルエンザ協力センターとして、周辺諸国と連携したサーベイランス活動を行い、WHO ワクチン推奨株の選定に貢献した。また、WHO の薬剤耐性サーベイランス強化ワーキング会議、パンデミックリスク評価法に関する会議にコアメンバーとして参加し、研究開発情報や国内サーベイランスから得られた情報を提供し、WHO の政策策定にも貢献し、WHO インフルエンザ協力センターとしての役割を果たした。

FETP 初期研修および医師卒後研修ではインフルエンザ流行状況やワクチン選定についての講義を行った。また感染研一般公開においては、インフルエンザに関する話題提供を行った。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから 10 年以上が経過し、研究開発業務、サーベイランス業務、WHO 協力センターとしての国際貢献、国内新型インフルエンザ対

策への貢献、ワクチン品質管理の研究など、広範な研究業務をセンター一丸となって推進し、WHO およびわが国のインフルエンザ行政を支援している。引き続き、センター機能を適切に維持するため、適正な人材の確保と若手研究者の育成に力を入れていきたい。

業績

調査・研究

I. インフルエンザウイルスに関する研究

1. バロキサビル耐性変異ウイルスのヒトからヒトへの感染伝播

国立感染症研究所と全国地方衛生研究所は共同で、2017/18 シーズンから抗インフルエンザ薬バロキサビルに対する耐性株サーベイランスを実施している。バロキサビルの臨床試験では、バロキサビル投与後の患者から、PA 蛋白質の 38 番目のアミノ酸に変異 (I38T/M/F) を持つインフルエンザウイルスが検出されており、ウイルスのバロキサビル感受性低下を引き起こすバロキサビル耐性変異であることが明らかになっている。我々のサーベイランスでは、バロキサビル未投与の小児から PA 蛋白質の 23 番目のアミノ酸に E23K 変異を持つウイルスを検出した。PA E23K 変異ウイルスはバロキサビルに対する感受性が低下していたが、ノイラミニダーゼ阻害剤に対する感受性は保持されていた。また、PA E23K 変異ウイルスは野生型ウイルスと比較して増殖能が低下していたが、疫学データにより、ヒトからヒトへの感染伝播が示唆された。バロキサビル耐性変異ウイルスの発生動向の把握は、公衆衛生上、極めて重要であり、引き続きバロキサビル耐性株サーベイランスを実施し、速やかに情報提供を行っていく必要がある。[高下恵美、森田博子、永田志保、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、桑原朋子、岸田典子、三浦秀佳、佐藤彩、秋元未来、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、全国地方衛生研究所]

2. ペラミビル耐性 B 型インフルエンザウイルスの検出

国立感染症研究所と全国地方衛生研究所が共同で実施しているノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランスにおいて、国内で初めてノイラミニダーゼ阻害剤耐性の B 型インフルエンザウイルスを検出した。NA 蛋白質の 273 番目のアミノ酸に H273Y 変異を持つこの B/山形系統ウイルスは、インドネシアに在住し、一時帰国した患者から検出され、インドネシ

アからの輸入例と考えられる。NA H273Y 変異ウイルスはペラミビル耐性を示し、オセルタミビルに対する感受性も低下していた。患者はノイラミニダーゼ阻害剤未投与で、ペラミビル耐性 B 型ウイルスがヒトからヒトへ感染伝播したと考えられる。海外からの輸入例についても耐性ウイルスの発生動向を注視していく必要がある。[高下恵美、永田志保、森田博子、藤崎誠一郎、三浦秀佳、白倉雅之、岸田典子、中村一哉、桑原朋子、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、渡邊真治、長谷川秀樹、全国地方衛生研究所]

3. 免疫不全患者から検出された多剤耐性 A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルスの性状解析

ノイラミニダーゼ阻害剤を長期投与された免疫不全患者から、NA 蛋白質に二重耐性変異を持つ A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルスを 3 株検出した。これらのウイルスは、NA 蛋白質の 275 番目のアミノ酸変異 H275Y に加えて I223R、I223K あるいは G147R 変異を持っていた。NA H275Y/I223R、NA H275Y/I223K および NA H275Y/G147R 変異ウイルスは、単一の NA H275Y 変異ウイルスと比較して、オセルタミビルとペラミビルに対する交叉耐性が增強され、ザナミビルに対する感受性も低下していた。これらの多剤耐性ウイルスはバロキサビルに対して感受性を示したことから、バロキサビルは多剤耐性ウイルスに対する治療の選択肢となり得ると考えられる。[高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、森田博子、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、三浦秀佳、佐藤彩、秋元未来、菅原裕美、渡邊真治、小田切孝人、全国地方衛生研究所]

4. 鶏卵馴化 A/Saitama/103/2014 (H3N2) インフルエンザウイルスの性状解析

近年、H3N2 ウイルスを鶏卵で分離・継代すると、鶏卵への馴化によって HA のレセプター結合部位 / 抗原部位に変異が入るため抗原性が変化し、流行株とワクチン株の抗原性が乖離する現象が起きている。

我々が分離した A/Saitama/103/2014 (H3N2) 株 (埼玉株) は、鶏卵で継代を重ねても HA のレセプター結合部位 / 抗原部位には変異が入らず、流行株と類似の抗原性を保持していた。このウイルスの限界希釈を行い、単一のクローンの分離を試みたところ、NA に 2 ヶ所の変異を持つウイルス (C3E8-m2) と 7 ヶ所に変異を持つウイルス (C3E8-m7) の 2 種類が分離された。これまでの実験から、これらの NA はレセプ

ター結合能を有すること、また埼玉株が鶏卵において NA を介して感染を成立させられることが明らかとなった。この埼玉株 NA があれば、HA の抗原部位への変異を阻止することが出来るかどうかを、鶏卵で継代すると HA の抗原部位に変異が入ることが報告されている2株のウイルスの HA を用いて検証した。埼玉株以外の HA と埼玉株 NA を持つウイルスを鶏卵で 10 代継代したところ、HA に変異が入りづらくなっていることが示唆された。したがって、埼玉株 NA のようにレセプター結合能を有する NA を用いれば、鶏卵で継代しても HA のレセプター結合部位や抗原部位への変異を回避することができ、より有効なワクチンを提供できる可能性が示された。[桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、高橋仁、佐藤佳代子、秋元未来、小川理恵、佐藤彩、三浦秀佳、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、小田切孝人]

5. ワクチン株の製造工程におけるスプリット化効率に関する物理化学的解析

平成 29 年度 A (H3N2) ワクチン株は、当初、埼玉株（野生株）が選定されたが、実際のワクチン製造開始後に予想以上に生産性が低い状況が判明したため、前年度ワクチン株であった香港株（高増殖性リアソータント）に変更された。そこで、ウイルスのワクチン株としての適性に関する理解を深めるため、ワクチン株の生産性に与える重要な特性のひとつであるスプリット化効率について、埼玉株（以下、ST 株）、香港株（以下、HK 株）、および過去の野生株由来のワクチン株である New York 株（以下、NY 株）に対して、物理化学的解析を行った。逆相 HPLC を用いて、各株のスプリット化工程の界面活性剤による HA 蛋白の可溶化率を評価したところ、HK 株 > NY 株 > ST 株 の順で大きく、実生産におけるスプリット化工程の収率と同じ傾向であった。また、逆相 HPLC の保持時間から HA 蛋白の親水性の大小を評価したところ、NY 株 > HK 株 > ST 株 の順であり、アミノ酸配列からの計算値 (Hopp-Woods 指標) の大小とも一致した。このように、スプリット化効率の悪い ST 株は、NY 株や HK 株より HA 蛋白の親水性は低いことが示唆されたが、各株のスプリット化効率に寄与する因子としては明確な相関性を示していないので、更なる因子探索が必要と考える。[嶋崎典子、桑原朋子、渡邊真治、板村繁之]

6. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 疑い患者検体の確認検査

昨年度に引き続き 2020 年 4 月から、地方自治体から送付された SARS-CoV-2 感染疑い患者検体および及び空港検疫からの帰国者・入国者から採取された検体に対して、リアルタイム RT-PCR 法による SARS-CoV-2 の同定検査を実施した。[インフルエンザウイルス研究センター、感染症危機管理研究センター、ウイルス第三部、エイズ研究センター、ウイルス第二部、血液・安全性研究部、安全実験管理部、病原体ゲノム解析研究センター、細菌第二部、品質保証・管理部、総務部、国立国際医療研究センター]

7. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 患者検体のゲノムサーベイランス

2021 年 1 月から、COVID-19 感染が確認された患者検体から RNA 抽出を実施し、次世代シーケンシング法による SARS-CoV-2 のゲノム解析を実施した。[インフルエンザウイルス研究センター、感染症危機管理研究センター、病原体ゲノム解析研究センター、ウイルス第三部、ウイルス第二部、血液・安全性研究部、細菌第二部]

8. 新型コロナウイルス S タンパク質変異ウイルス検出系の構築

SARS-CoV-2 S タンパク質 N501Y 変異を検出するリアルタイム RT-PCR 法を構築し、マニュアルを整備した。また、陽性コントロールを作製し、全国の希望検査施設へ配布した。[影山努、齊藤慎二、高山郁代、長谷川秀樹]

9. 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) ワクチン開発のための動物実験モデルの構築に関する研究

世界的な SARS-CoV-2 のパンデミックの発生に伴い、新規ワクチン開発につながる動物実験系の構築を目指し、サル、フェレット、ハムスター等を用い、SARS-CoV-2 を感染させた場合のウイルスの増殖性、ならびに免疫応答に関する解析を行った。フェレットに SARS-CoV-2 を経鼻的に感染させ、経時的に鼻腔洗浄液、咽頭スワブ、直腸スワブを回収してウイルスの増殖性を検討した結果、鼻腔と咽頭スワブで感染 5 日目まで高いウイルス増殖が認められ、その後急速な減少が認められた。一方で直腸でのウイルス増殖は気道より有意に低

く、消化管では積極的なウイルスの増殖は行われていないことが示唆された。多くのフェレットでは重篤な症状は認められず、感染7日後の肺を中心とした下気道の病理組織学的解析においても、重篤な症状につながる病変は認められなかった。[白倉、岸田、渡邊、有田、鈴木、浅沼、長谷川、永田*、岩田*、志和*、鈴木*(感染病理部*)]

II. インフルエンザワクチンに関する研究

1. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種者血清の抗体保有率、上昇倍率、および流行株との交差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うえで重要である。そこで、2020/21 シーズン(令和 2 年度)の季節性インフルエンザワクチン接種を受けた成人層 24 人および高齢者層 24 人のそれぞれペア血清を用いて、ワクチン製造株および流行株に対する反応性を A(H1N1)pdm09 と B 型については赤血球凝集抑制(HI)試験で、A(H3N2)については HI 試験で実施することが困難であるため中和試験で評価した。成人層はワクチン製造株の A/Guangdong-Maonan/SWL1536/19 (CNIC-1909) (H1N1) pdm09、B/Victoria/705/18 (BVR-11) (ビクトリア系統)及び B/Phuket/3073/13(山形系統)株に対して 80HI 価以上を示すワクチン接種後の血清を使用した。高齢者層は、A/Guangdong-Maonan/SWL1536/19 (CNIC-1909) (H1N1) pdm09 と、B/ Victoria/705/18 (BVR-11) (ビクトリア系統)、または B/Phuket/3073/13 (山形系統)株のいずれかに対して 80HI 価以上を示すワクチン接種後の血清を使用した。A(H1N1)pdm 野外流行株については、ワクチン接種者血清は、ワクチン株(細胞分離株)と比べると低い反応性を示す株があった。A(H1N1)pdm09 ウイルスの HA の 156 番目に K のアミノ酸を持つウイルスとの反応性に大きな低下が認められた。A(H3N2)流行株については、ワクチン株(細胞分離株)との反応性に比べて、ワクチン株と同じクレードの野外流行株に対して若干反応性が低下し、違うクレードの流行株に対しては大きく反応性が低下した。この低下は H3N2 流行株の HA の変異だけでなく、H3N2 ワクチン株の卵順化による抗原性の変化が大きく影響していることが考えられた。B ビクトリア系統及び B 山形系統流行株については、ワクチン株(細胞分離株)との反応性と比べると、ほぼ同等の反応性をしめした。また、米国と英国から入手したワクチン接種後ヒト血清に

についても同様の評価を行ったところ、米国のワクチン接種者血清の抗体幾何平均値は、ワクチン接種後に高い上昇倍率を示したのに対して、日本のワクチン接種者血清のその上昇倍率は極めて低かった。ワクチン効果増強のためには日本のワクチンの低い免疫原性を改善することが必須であると考えられる。これらの成績を WHO インフルエンザ協力センター間で共有し、2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での議論に際し、有用な資料として活用された。[岸田典子、中村一哉、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、高下恵美、桑原朋子、森田博子; 菖蒲川由郷、齋藤玲子(新潟大学国際感染医学講座)、渡邊真治、長谷川秀樹]

2. 細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けての取り組み

日本の季節性インフルエンザワクチン製造に細胞培養法を導入するための基盤確立を目的とし、2018 年度から 3 年間継続した AMED 研究の最終年度にあたり、下記課題に取り組んだ。[(1)細胞培養ワクチン株の開発。(2)細胞培養ワクチンの品質評価法の開発。] 課題(1):(i)感染研所有の NIID-MDCK 細胞を用いて 2019/20 シーズンの臨床検体から分離したウイルス(元株)について、ワクチン製造所へ情報共有を行った。各ワクチン製造所社により、進捗が異なるが、昨年度までに分与した元株に由来するワクチン製造候補株に対して、当室で抗原解析試験を行い、WHO が推奨する当該シーズンの抗原的基準株との抗原的同等性につき評価を行った(詳細は別記)。今後、これまでに分与した元株から開発された全ての候補株に関して抗原解析試験を行い、ワクチン株開発に関わる今後の課題を明らかにする。(ii) パンデミック対応の一環として、H2 亜型ウイルス 2 株の増殖性を NIID-MDCK 細胞およびメーカー 2 社の細胞を用いて行った。その結果、NIID-MDCK 細胞では、高増殖性が確認されたが、メーカー細胞では、細胞やウイルスの違いにより多少ばらつきが確認された。実際の、パンデミックウイルスでも同様の結果となる可能性はあるので、対応の必要性が示唆された。(2):課題(1)で開発された一部のワクチン株をもとに一元放射免疫拡散(SRD)試験試薬を作製し、SRD 試験を行った(詳細は別記)。その中で、SRD 試薬のうち羊抗血清のメーカー間での共有化や羊抗血清の代わりとしての mAb の使用の可能性を検討した。血清共有化に関しては、抗原性が

同等であるワクチン株 H 株、S 株各々の HA で免疫した羊抗血清を用いた場合、SRD 試験で推定された HA 抗原量に 20%程度の違いが確認された。今後、細胞培養ワクチンが実用化されるまでに、SRD 試験で用いる羊抗血清の反応性と免疫に用いるワクチン株の抗原性の関連を踏まえた上で、羊抗血清の共有化について検討することが望ましい。[信澤枝里、高橋仁、中内美名、長谷川秀樹、ワクチン製造所(KM バイオロジクス、第一三共バイオテック、武田薬品工業、阪大微研会)]

3. 細胞培養ワクチン株の開発

NIID-MDCK 細胞を用いて各インフルエンザシーズン(2017/2018、2018/2019)に採取された臨床検体から分離したウイルス(元株)をワクチン製造所へ分与し、A/H3N2 亜型、B/ビクトリア系統のワクチン候補株の作製を行った。これら候補株の多くが、WHO 推奨抗原的基準株と同等の抗原性を示し、細胞培養ワクチン株として資するものであることを確認した。また、作製したワクチン株(2017/2018 または 2018/2019 シーズン採取の臨床検体から作製)の抗原性を、2018/2019 または 2019/2020 シーズン市中流行株と比較した。その結果、作製した全ての細胞培養ワクチン株は市中流行株と抗原性の相違がないことが示された。[信澤枝里、高橋仁、中内美名、長谷川秀樹、ワクチン製造所(第一三共バイオテック、阪大微研会)]

4. 細胞培養ワクチンの品質評価法の開発

細胞培養ワクチンの HA 抗原量測定のための一元放射免疫拡散(SRD)試験用試薬の作製と確認を行った。2018/2019 シーズン採取の臨床検体から作製した A/H3N2 亜型の細胞培養ワクチン株を大量培養後に HA 精製を行い、それらをヒツジに免疫し HA 抗原量測定試薬(SRD 試験用の抗血清)の作製を行った。また 2014/2015 シーズン採取の臨床検体から作製した A/H1N1pdm09 亜型、A/H3N2 亜型、B/ビクトリア系統、B/山形系統および A/H7N9 亜型の細胞培養ワクチン株を用いて作製した SRD 試薬(一次標準品、標準抗原、ヒツジ抗血清)を用いて、標準抗原の HA 抗原量を測定したところ、SRD 試験による妥当な径のリング形成が困難なものもあり、標準抗原の調製法などの更なる検討も必要であることが示された。

SRD 試験に使用する試薬の中で、ヒツジ抗血清の代わりと

してモノクローナル抗体(mAb)を用いた SRD 試験法の開発を行った。A/H1N1pdm09 の HA に対する 18 種類の mAb および H1HA ストックに対する 41 種類の mAb を SRD 試験に使用し、その有用性を検討した結果、これらの mAb を単独ではなく複数組み合わせることで、H1pdm09 特異的に明瞭で妥当な径のリング形成を確認することができた。[高橋仁、中内美名、長谷川秀樹、信澤枝里、ワクチン製造所(第一三共バイオテック、阪大微研会)]

5. インフルエンザウイルス存在下におけるパラインフルエンザウイルス 3 型に対する NIID-MDCK 細胞の感受性評価

インフルエンザウイルスとパラインフルエンザウイルス 3 型(HPIV3)を感受性の高い NIID-MDCK 細胞に共感染させて経時的に培養上清中に放出される各ウイルスゲノム量をリアルタイム PCR 法で定量した。その結果、インフルエンザウイルスのゲノム量は維持されるが、HPIV3 のゲノム量は有意に減少した。そのため、インフルエンザウイルスと HPIV3 のウイルス干渉により、インフルエンザウイルスは HPIV3 の増殖を抑制することが示唆された。[浜本いつき、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

6. ヒト粘膜抗体の測定方法の樹立に関する研究

経鼻インフルエンザワクチン開発の一環として、気道抗体の評価方法の構築を目指した検討を進めている。前年度までに抗体応答を測定するための唾液はワルトン管の分泌部位から採取すると高濃度、かつ夾雑物が少ない分泌型 IgA 抗体(SIgA)が回収できることを示した。一方、鼻腔洗浄液中に分泌される SIgA については、防御効果との相関性を示すことが困難であったため、インフルエンザに感染したヒトの鼻腔洗浄液で中和能を検討するためのモデル実験として、感染マウスの鼻腔洗浄液を用いた plaque reduction 法を検討した。その結果、マウスにインフルエンザウイルスを感染させ、高い抗体応答が認められた鼻腔洗浄液であれば、鼻腔洗浄液を濃縮せずにプラークの減少能が認められることが明らかとなった。本動物モデルで構築した解析系がヒトへ応用可能かどうかを検討するため、感染から回復したヒトから回収した鼻腔洗浄液の気道抗体応答の解析を行った。その結果、感染したと思われる亜型に対する高い気道抗体応答が認められていた。現在本材料を用いた特異的プラーク減少についての検討を行なっている。[浅沼秀樹;黒野祐一、大堀純一]

郎(鹿児島大学・医)、藤橋浩太郎(東大・医科研)、長谷川秀樹]

7. 一元放射免疫拡散試験 (SRD 法) の画像解析技術による自動化測定の検討

これまで、インフルエンザワクチンの新規品質管理試験法の開発に取り組んでおり、本年度は、SRD 法の改良として、試験実施における人の負担低減を目指し、画像解析技術を導入することで、計測精度は目視と同程度のまま、機械による自動化測定の実現性を検討した。具体的には、平行線定量法での解析値および各 SRD 沈降輪の直径について、目視計測と画像解析自動計測(機械計測)で比較した。測定サンプルは、平成 30 年度参照ワクチン(含有株 : A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (H1N1)pdm09、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (IVR-186) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Maryland/15/2016 (NYMC BX-69A)) を用いた。その結果、平行線定量法による SRD 値について、複数名の目視計測のバラツキに比べて、機械計測のバラツキの方が大きかった。特に、H3 株 (IVR-186) では、機械計測は SRD 値が高い方に乖離したため、SRD 沈降輪の直径自体について解析したところ、同一プレートを目視計測と機械計測で計測したリング径の差は $-1.0\sim 0.4\text{mm}$ の範囲となり、機械計測は標準抗原を小さく計測していた。この要因は SRD 試薬の抗血清の性質に依存すると考えられる。すわなち、リングの自動計測はある程度出来そうだが、目視と同様なリング認識にはまだ課題があることが明確になった。また、リング様相(抗血清の抗原との反応性)が株によって異なるため、株毎の計測設定は必要であり、リング境界について目視と同等の認識ができない場合もあった。従って、プレート上の沈降輪全てに対して、目視と同等でリング認識できるようにするため、今後は、解像度の高い機械、あるいはリング境界のマニュアル補正を AI 等で学んでいくような計測ソフトを持つ機械について検討する必要性が明らかとなった。[嶋崎典子、板村繁之、原田勇一、佐藤佳代子、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

8. インフルエンザワクチン国家検定の見直し

現在、ワクチンの国家検定試験は、製造されるすべてのロットについて実施されているが、SLP の導入、製造所におけ

る GMP 導入など、ワクチンの品質向上が図られているため、国家検定の内容を見直し、全ロット検定の要否について検討が行われている。インフルエンザワクチンについても本見地に立ち、特に重要な力価 (SRD) 試験について、令和2年度を含む過去3年の検定成績から評価を行なった。検定成績と製造所の成績は概ねよく一致しており、過去のトレンドからも大きな乖離は認められなかった。しかしながら、標準品の安定性や、標準品と人的要因の複合的な問題など、予測困難な事象が散発するため、少なくとも毎年毎に試薬及び試験の確認作業が必要であると示唆された。[原田勇一、嶋崎典子、中村一哉、板村繁之、長谷川秀樹]

レファレンス業務

1. サーベイランスキット作製と国内への配布

A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B ビクトリア系統、B 山形系統のレファレンスウイルスから不活化抗原とウサギ免疫血清を作製して、型/亜型/系統を同定するためのインフルエンザウイルスサーベイランスキットとして、約 60 カ所の地方衛生研究所に配布した。本キットにより同定されたウイルスの分離情報は地衛研で病原体検出情報システムに登録され、その情報は地衛研から当室へのウイルス提供に際して有効に活用された。提供されたウイルスについて詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行いインフルエンザの流行予測およびワクチン株選定の資料とした。[中村一哉、岸田典子、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、渡邊真治、長谷川秀樹]

2. フェレット感染血清作製とサーベイランスキットの海外への配布

A(H1N1)pdm09(細胞株)、B 山形系統(細胞株)、B ビクトリア系統(細胞株)のレファレンスウイルスを用いてフェレット感染血清と不活化抗原を作製し、抗原性解析用インフルエンザウイルスサーベイランスキットとして、わが国周辺諸国(韓国、台湾、ミャンマー、モンゴル、ラオス)に配布した。本キットを用いて各国で初期解析されたウイルスの提供を受け、さらに詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行い、WHO および国内向けワクチン株選定会議へ情報提供した。[岸田典子、中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、桑原朋子、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、渡邊真治、長谷川秀樹]

3. 全国地方衛生研究所における抗インフルエンザ薬耐性検査の実態調査・技術移転

全国地方衛生研究所では、インフルエンザウイルスの NA 遺伝子型解析ならびに PA 遺伝子型解析により抗インフルエンザ薬耐性株の検出を行っている。しかしながら、シーズン毎の流行状況により解析株数が大きく変動するため、検査精度の維持・向上を目的として、検査の実態調査を行った。本年度は、NA 遺伝子型解析について、昨年度までの 53 地方衛生研究所に続き、3 地方衛生研究所を対象に、新たに合成した陽性コントロール RNA を配布し、TaqMan RT-PCR 法により解析を行った。また、PA 遺伝子型解析について、2 地方衛生研究所を対象に、新たに開発した RNase H2-dependent PCR 法の陽性コントロール cDNA を配布し、検査の効率化を目的とした技術移転を行った。[高下恵美、中内美名、岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、森田博子、永田志保、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、全国地方衛生研究所]

4. インフルエンザウイルス核酸診断検査法の地方衛生研究所に対する外部精度評価の実施

令和 2 年度外部精度管理事業に参加した、全国 49 ヶ所の地方衛生研究所に対して、インフルエンザウイルスの核酸検出検査（リアルタイム RT-PCR 法）による型・亜型診断検査の外部精度評価(EQA)を実施した。各地方衛生研究所から送付された結果報告およびアンケートに対して解析を行い、EQA の結果については各所に報告した。また、EQA を実施した結果、各所が行うインフルエンザウイルス核酸診断検査法に何らかの問題点が見つかった場合はトラブルシューティングを実施する事とし、各所のトラブルシューティングに関する質問事項等に対応し、検査精度向上に向けた改善法などについて助言を行った。[影山 努、齊藤慎二、高山郁代、長谷川秀樹]

5. インフルエンザワクチンの力価測定用標準抗原国際キャリブレーション

WHO ERL として、ワクチンの力価測定用標準抗原に関する国際キャリブレーションを実施した。具体的には、B/Singapore/INFTT-16-0610/2016 cell-derived [NIBSC]、A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909)

(H1N1)pdm09 [NIBSC]、A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09 [CBER]、A/Hawaii/70/2019 (H1N1)pdm09 rHA [CBER]、A/Victoria/2454/2019 (IVR-207) (H3N2) [CBER]、A/Victoria/2454/2019 (IVR-207) (H3N2) [NIBSC]、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [TGA]、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [TGA] (追加ロット)、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [NIBSC]、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [CBER]、A/Victoria/2570/2019 (IVR-215) (H1N1)pdm09 [TGA]、A/Victoria/2570/2019 (IVR-215) (H1N1)pdm09 [TGA] (追加ロット)、A/Victoria/2570/2019 (IVR-215) (H1N1)pdm09 [NIBSC]、A/Minnesota/41/2019 rHA (H3N2) [CBER]、A/Hong Kong/2671/2019 (NIB-121) (H3N2) [NIBSC]、B/Phuket/3073/2013 (BVR-1B) [TGA]、A/Delaware/55/2019 cell-derived (H1N1)pdm09 [CBER] について、新規ロットの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、米国の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、TGA、CBER と共同で実施した。[原田勇一、仲山紀子、佐藤佳代子、板村繁之、嶋崎典子、高橋 仁、藤崎誠一郎、中内美名、高山郁代、高下恵美、浜本いつき、長谷川秀樹]

6. 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

令和 2 年度のインフルエンザ HA ワクチンのワクチン製造株である A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09、A/Hong Kong/2671/2019 (NIB-121) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Victoria/705/2018 (BVR-11) の 4 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、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量、及び参照抗血清の至適濃度の設定を実施し、本年度国内標準品として制定した。また、B 型ウイルスの 2 株については、SRD 試験方法の評価研究結果に基づき、SRD 試験の実施区分を制定した。[嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、仲山紀子、佐藤佳代子、中村一哉、高橋 仁、高山郁代、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、渡辺佳世、長谷川秀樹]

7. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための参照インフルエンザ HA ワクチンの作製

国家検定の力価試験として一元放射免疫拡散 (SRD) 試験あるいは卵中和試験を行うこととされているが、通常は SRD 試験が力価試験として実施されている。SRD 試験で HA 含量が規定されたワクチンのマウスにおける免疫原性を確認することを主な目的として、卵中和試験に使用するウイルス株ごとに 15 μ g/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを作製している。本年度の参照ワクチンとして、令和 2 年度のワクチン製造株である A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09、A/Hong Kong/2671/2019 (NIB-121) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Victoria/705/2018 (BVR-11) の 4 株のワクチンを含有するものを作製した。参照ワクチンの作製に使用する原液について HA 価測定及び分画試験を実施して原液の品質規格を確認した。また、SRD 試験によって原液の HA 含量を測定して、ウイルス株ごとに 15 μ g/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを調製した。得られた参照ワクチンについて、たん白質含量試験、マウス白血球数減少試験を実施して規格に適合していることを確認し、卵中和試験によってその力価を測定した。[佐藤佳代子、嶋崎典子、原田勇一、仲山紀子、板村繁之、高橋 仁、高山郁代、岸田典子、白倉雅之、浅沼秀樹、鈴木康司、有田知子、中村一哉、藤崎誠一郎、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、渡辺佳世; 谷生道一、楠英樹、浜口功 (血液・安全性研究部); 持田恵子、蒲地一成、柴山恵吾 (細菌第二部)、長谷川秀樹]

8. 標準インフルエンザワクチン(CCA 用)の作製

標準インフルエンザワクチン(CCA 用)は毎年新規ロットを作製している。令和 2 年度は令和元年度に調製、納品された B/大阪/2/70 株を用いた原液ロットから、令和 2 年度用の標準インフルエンザワクチン(CCA 用)を調製し、ロット制定を行った。[佐藤佳代子、仲山紀子、鈴木康司、岸田典子、高山郁代、原田勇一、長谷川秀樹]

9. 標準インフルエンザワクチン(CCA 用)の安定性評価

標準インフルエンザワクチン(CCA 用)にこれまで用いていたワクチン原液の更新が必要となり、令和元年度よりワクチン原液の安定性試験を開始した。12 ヶ月時点で B/大阪/2/70

株を用いたワクチン原液は管理幅内であった。継続して安定性を測定していく予定である。原液製造株として B/プーケット/3073/2013 株を用いた場合には調製メーカーにより管理幅を逸脱する検体もあったことから、原液製造株を B/大阪/2/70 株から変更する時には検討が必要である。[佐藤佳代子、仲山紀子、鈴木康司、岸田典子、高山郁代、原田勇一、長谷川秀樹]

サーベイランス業務

1. インフルエンザウイルス国内流行株の抗原性解析

全国の医療機関、保健所および地衛研の協力をもとに、主に 2019/20 および 2020/21 シーズンに分離された A(H1N1)pdm09:171 株、A(H3N2):43 株、B 型ビクトリア系統:101 株、B 型山形系統:2 株について、抗原性解析を行った。A(H1N1)pdm09 分離株は、2020/21 シーズンの WHO ワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hawaii/70/2019 の類似株および鶏卵分離株 A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 に対するフェレット感染血清とよく反応する株が多かったが、反応のよくない株も確認された。反応のよくない株は、共通して HA の 156 番目のアミノ酸として K を有していた。A(H3N2)分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hong Kong/45/2019 に対するフェレット感染血清とは比較的よく反応したが、鶏卵分離株 A/Hong Kong/2671/2019 に対するフェレット感染血清との反応性はよくなかった。これは、鶏卵分離株は、卵馴化による変異の影響のために、野外野生株と抗原性が違っていることを示している。B/ビクトリア系統分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離および鶏卵分離株 B/Washington/02/2019 に対するフェレット感染血清とよく反応した。B/山形系統分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 B/Phuket/3073/2013 に対するフェレット感染血清との反応性があまり良くない株があった。[岸田典子、中村一哉、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、桑原朋子、三浦秀佳、森田博子、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所]

2. アジア地域および近隣諸国で分離されたインフルエンザウイルス流行株の抗原性解析

アジア近隣諸国 WHO ナショナルインフルエンザセンターからの 55 株(台湾 2 株、ネパール 14 株、ミャンマー 5 株、ラ

オス 34 株)について、抗原性解析を行なった。A(H1N1)pdm09 分離株は、国内流行株と同様に 2020/21 シーズンの WHO ワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hawaii/70/2019 の類似株および鶏卵分離株 A/Guangdong-Maonan/SWL1536 /2019 に対するフェレット感染血清とよく反応する株が多かったが、反応のよくない株も確認された。A(H3N2)分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hong Kong/45/2019 に対するフェレット感染血清と反応性の良い株と良くない株が確認された。最近の H3N2 流行株は HA 遺伝子系統樹上多様であり、試験結果はワクチン株と抗原的に異なる株が存在していることを示唆している。また、鶏卵分離株 A/Hong Kong/2671/2019 に対するフェレット感染血清との反応性は、いずれの株もよくなかった。B ビクトリア系統分離株は、多くは 2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離および鶏卵分離株 B/Washington/02/2019 に対するフェレット感染血清とよく反応したが、一部の株の反応性はよくなかった。これらの株は、HA の 150 および 197 番目のアミノ酸(いずれも抗原部位)の変異の影響と考えられた。B 山形系統は 2019/20 シーズン分離株は無かった。これらの解析結果は、ウイルス提供国へ還元され、WHO 世界インフルエンザ監視対応システムにおける当該諸国と感染研の連携強化や WHO インフルエンザワクチン株選定会議での議論に際して活用された。[岸田典子、中村一哉、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、桑原朋子、三浦秀佳、森田博子、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹]

3. 2019/2020 および 2020/21 シーズンの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 と NA 遺伝子の変化に関する情報は、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時の基盤となり、公衆衛生上極めて重要な役割を担っている。全国の医療機関、保健所および地衛研の協力のもとに、A(H1N1)pdm09 亜型 108 株、A(H3N2)亜型 48 株、B 型ビクトリア系統 88 株、B 型山形系統 2 株について HA、NA 及び PA 遺伝子の系統樹解析を行った。A(H1N1)pdm09 亜型流行株はサブクレード 6B.1A (S74R, I295V, S164T)内で、成熟 HA のアミノ酸の 183 番目に変異を持つ複数の群(183P-1~183P-7)に分岐している。解析した株は全て 183P-5 に属し、その大部分は 183P-5A (N129D, T185I)に属した。

また、183P-5A 内で 183P-5A1(D187A, Q189E)および 183P-5A2(N156K, K130N, L161I, V250A, E506D)が分岐した。A(H3N2)亜型は、ほとんどが 3C.2a (L3I, N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H, D489N)内の 3C.2a1 (N121K, N171K, I406V, G484E)に属した。さらに、3C.2a1b.1a (E62G, T128A, T135K, A138S, R142G, G186D, D190N, F193S, S198P)、3C.2a1b.1b (E62G, T128A, T135K, S137F, A138S, R142G, F193S)、3C.2a1b.2a (E62G, K83E, Y94N, T131K, R142G, I522M, V529I)、3C.2a1b.2b (E62G, T131K, R142G, Q197R, S219F, V347M, E484G, V529I)が派生した。なお 3C.2a1b.2a 内には抗原部位に変異を有する集団が確認されている。B 型ビクトリア系統は全てクレード 1A (N75K, N165K, S172P)内の 1A.3 (162~164 番目の 3 アミノ酸欠損、K136E)に属した。山形系統は解析した 19/20 シーズンの 2 株がクレード 3 (S150I, N165Y, N202S, S229D)に属した。データベース充実化のために、上述した株のうち 87%については全セグメントの遺伝子解析を実施した。なお、解析した遺伝子配列はインフルエンザウイルスデータベース GISAID へ登録した。また、作成した系統樹を感染症疫学センターの IASR ウェブサイトに掲載した。[藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、岸田典子、中村一哉、高下恵美、桑原朋子、森田博子、永田志保、佐藤彩、秋元未来、渡邊真治、小田切孝人、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所]

4. インフルエンザウイルス流行株の抗インフルエンザ薬感受性試験

薬剤耐性ウイルスの検出状況を逐一把握し、速やかに情報発信することは公衆衛生上極めて重要である。令和 2 年度には、オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビル、アマンタジンならびにバロキサビルの 6 薬剤を対象として、国内外の A(H1N1)pdm09、A(H3N2)および B 型分離株の薬剤感受性を解析した。その結果、日本国内では、NA 蛋白質に H275Y 耐性変異をもつオセルタミビル・ペラミビル耐性株が A(H1N1)pdm09 で 13 株(1.5%)検出された。耐性株はいずれも散发例で、地域への感染拡大は認められなかった。また PA 蛋白質に耐性変異をもつバロキサビル耐性変異株は検出されなかった。海外株では、耐性株は検出されなかった。M2 蛋白質に S31N 耐性変異をもつアマンタジン耐性株の検出率は A(H1N1)pdm09 と A(H3N2)で共に 100%であった。日本国内の薬剤耐性株サーベイランスで得られた結果は、

NESID(感染症サーベイランスシステム)を通して毎週、各関係機関に情報提供した。また感染症疫学センターのIASR ウェブサイトにおいて随時一般公開し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。[高下恵美、森田博子、永田志保、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、佐藤彩、秋元未来、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所]

5. 2020/21 シーズンに国内において家きんおよび野鳥から分離された H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析及び抗原性解析

2020/21 シーズンは、国内各地において、家禽、野鳥及び環境中からの H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出報告があった。これら報告があった中から分離株を受け入れ、遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。遺伝子解析の結果、受入株の HA 遺伝子は、すべて H5 HA クレード 2.3.4.4 b に属し、受入株の多くは、2019/20 シーズンに欧州において分離された株と近縁であった。しかし、鹿児島県において分離された株(A/mallard/Kagoshima/KU-d89/2021)は、HA 遺伝子系統樹上、他の分離株と少し離れたグループに属し、2020/21 シーズンに欧州において分離された株と類似していた。当センターで所有している同クレードに属するリファレンス株である A/mute swan/Shimane/3211A001/2017 (H5N6) 及びクレード 2.3.4.4 c に属する H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するフェレット抗血清を用いて HI 試験を実施した。その結果、A/mute swan/Shimane/3211A001/2017 (H5N6) に対する抗血清は、受入株にあまり反応しなかった。しかし、クレード 2.3.4.4 c に属する H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するフェレット抗血清は、受入株に良く反応した。これらの解析結果は、WHO インフルエンザワクチン株選定会議において資料として活用された。[有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、迫田義博*、内田裕子**、西藤岳彦**、小澤真***、渡邊真治、長谷川秀樹:*北海道大学、**動物衛生研究所、***鹿児島大学]

6. 携帯品非加熱家きん肉から分離された H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析及び抗原性解析

農林水産省動物検疫所では、2015 年度より海外から携帯品として持ち込まれた未加熱家きん肉等の鳥インフルエンザ

ウイルス汚染状況調査を実施している。そこで、当センターでは、これらの分離された鳥インフルエンザウイルス株の提供を受け、解析を実施している。今年度は、H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスを 1 株提供され、遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。

分与株である AQ-HE31-26 株はベトナム国ホーチミンで搭載された鶏肉から分離された。遺伝子解析の結果、Y280/G9 系統に属し、近年、ベトナム国において分離されている H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスと類似していた。同系統に属するワクチン製造候補株である A/chicken/Hong Kong/G9/97 株及び Y280/G9 系統のレファレンス株である SJ008 株(A/chicken/Hong Kong/308/2014)に対するフェレット抗血清を用いて HI 試験を実施した。その結果、A/chicken/Hong Kong/G9/97 株に対する抗血清は、本ウイルス株に良く反応した。これらの解析を実施することは、東南アジア及び近隣諸国における発生株の性状を把握する上で非常に有益であると考えられる。これらの解析結果は、WHO インフルエンザワクチン株選定会議における資料として活用された。

[有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、岩中麻里*、渡邊真治、長谷川秀樹:*動物検疫所海外病検査課]

7. 中国においてヒトから分離された Eurasian avian-like A (H1N1) 豚インフルエンザウイルスの性状解析

中国 CDC より、ヒトから分離された Eurasian avian-like H1N1 豚インフルエンザウイルス遺伝子型 4(G4)株を分与され、性状解析を実施した。分与株と同系統に属するワクチン製造候補株である CNIC-1601 株(A/Hunan/42443/2015)に対するフェレット抗血清を用いて HI 試験を実施した結果、分与株は CNIC-1601 株に対する抗血清に反応した。さらに、より詳細に抗原性解析を実施するために分与株に対するフェレット抗血清を作製し抗原性解析を行った。これらの解析を実施することは、中国及び近隣諸国における発生株の性状を把握する上で非常に有益であると考えられる。[有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、渡邊真治、長谷川秀樹]

8. 我が国に飛来する野生水禽における A 型鳥インフルエンザウイルスの保有調査

2003 年末以降、東アジアの家禽で発生した H5N1 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスが東南アジア、中近東、

アフリカ、ヨーロッパへと拡散した。この感染拡大経路は渡り鳥の飛行ルートとも相関していることから、渡り鳥によってこれら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。また、最近では H5N8、H5N6、H7N9、H9N2 亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が東アジアで報告されており、鳥インフルエンザウイルスの国内での流行状況を把握する事は重要である。これらウイルスの我が国への侵入をモニターし、ウイルスライブラリーの構築を目的として、地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥より採取した糞便を用いて鳥インフルエンザウイルスの分離培養を試みたが、本年度はウイルスを分離する事はできなかった。[高山郁代、齊藤慎二、長谷川秀樹、影山努]

9. 日本のブタにおける新型インフルエンザウイルスの発生の監視

全国 5 カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行った。本年度は、ウイルスが分離されなかった。[齊藤慎二、高山郁代、長谷川秀樹、影山努]

10. 季節性インフルエンザウイルスの鶏卵分離

現行の季節性インフルエンザワクチン製造株は、臨床検体から発育鶏卵を用いて分離されたウイルスから開発されている。しかし、最近の季節性インフルエンザウイルス(特に A/H3N2)は鶏卵での分離効率が低下している。そこで、鶏卵で分離され、かつ、抗原性は市中流行株に近いウイルスの分離を試み、季節性ワクチン製造株の開発に資することを目的とした。そのため、国内の医療機関から提供された臨床検体を発育鶏卵に接種し、ウイルス分離を試みた。その結果、A(H3N2):5 株ウイルスの分離に成功した。[鈴木康司、有田知子、浜本いつき、渡辺佳世、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

11. 季節性インフルエンザワクチン製造株候補の解析

WHO 関連機関で開発された高増殖リアソータント 2 株に対し、フェレット抗血清を作製して抗原性解析 (two-way test) および遺伝子解析を行い、ワクチン製造株候補としての妥当性を評価した。妥当性の基準は、親株および当該シーズンの WHO 推奨抗原的基準株 (WHO 基準株) との抗原的同等

性とした。対象とした高増殖リアソータントは、

- (1) B/Kanagawa/AC1867/2019 (BX-93A)
- (2) B/Kanagawa/AC1867/2019 (BX-93B)である。

これらは親株および 2020/21 シーズン北半球向け WHO 基準株と抗原的に同等と評価された。[有田知子、鈴木康司、渡辺佳世、浜本いつき、中内美名、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

ワクチンの安定供給に関する業務

2021/22 シーズン用鶏卵培養季節性インフルエンザワクチン製造株候補の準備

2021/22 シーズン用ワクチン製造株の選定にあたり、下記製造株候補の輸入および SPF 卵を用いての増殖を行なった。

A(H1N1)pdm09:

- A/Pennsylvania/1025/2019(IVR-213)
- A/Victoria/2570/2019 (IVR-215)
- A/Victoria/3/2010 (IVR-216)
- A/Victoria/1/2020 (IVR-217)
- A/Indiana/2/2020(NYMC X-349)
- A/Indiana/2/2020(NYMC X-349A)

A(H3N2):

- A/Hong Kong/2671/2019(NYMC X-341)
- A/Paris/2554/2019(NYMC X-347)
- A/Paris/2554/2019(NYMC X-347A)
- A/Paris/2554/2019(IVR-218)
- A/Pennsylvania/1026/2019(NYMC X-353)
- A/Perth/20/2020(IVR-220)
- A/Tasmania/503/2020 (IVR-221)
- A/Cambodia/e0826360/2020 (IVR-224)
- A/Beijing-Miyun/51/2020(CNIC-2001)
- A/Beijing-Miyun/51/2020(CNIC-2001A)

B 型ビクトリア系統:

- B/Kanagawa/AC1867/2019
- B/Kanagawa/AC1867/2019 (NYMC BX-93A)
- B/Kanagawa/AC1867/2019 (NYMC BX-93B)
- B/Rhode Island/01/2019
- B/Sichuan-Jingyang/12048/2019

ワクチン製造所で増殖性、蛋白収量等の検討を行うため、A(H1N1)pdm09 の 2 株を試験交付、A(H1N1)pdm09 の 4 株と A(H3N2)の 2 株と B 型ビクトリア系統の 3 株を分与(仮交付)した。ワクチン製造所における増殖性や蛋白収量等の情報は、2021/22 シーズンワクチン株検討会議に供され、ワクチン製造株検討資料として共有された。[鈴木康司、有田知子、渡辺佳世、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

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 (SRD) 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。更に、平成 27 年度からの 4 価ワクチン導入にともない、生物学的製剤基準の一部改正が実施され、B 型株の SRD 試験方法の実施区分が制定された。このような状況に対応するため、本年度の参照インフルエンザ HA ワクチン (含有ワクチン株 : A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019(CNIC-1909) (H1N1)pdm09、A/Hong Kong/2671/2019(NIB-121) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Victoria/705/2018 (BVR-11)) を使用して SRD 試験の測定精度、また、各製造所の測定値との乖離についての検討を実施した。[嶋崎典子、原田勇一、中村一哉、長谷川秀樹]

2. 季節性インフルエンザワクチン製造用候補ウイルス株の品質管理試験の実施

2020-21 年シーズンのインフルエンザワクチン製造用候補ウイルス A(H1N1)pdm09 亜型 1 株、A(H3N2)亜型 32 株、B 型 Victoria 系統3株について、抗原分析及び HA、NA 遺伝子の遺伝子解析を実施して遺伝的・抗原的安定性を解析し、ワクチン製造用株としての適性を確認した。また、インフルエンザワクチン製造用に試験交付及び仮交付された株の無菌試験を実施した。解析結果は、インフルエンザワクチン株選定のための検討会議等を通じて関係各機関と情報を共有した。[原田勇一、佐藤佳代子、嶋崎典子、仲山紀子、高橋仁、高山郁代、中村一哉、岸田典子、佐藤彩、浅沼秀樹、浜本

いつき、板村繁之、長谷川秀樹]

国際協力関係業務

1. WHO 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス強化のためのワーキンググループへの参加

WHO GISRS の抗インフルエンザ薬耐性ワーキンググループのメンバーとして、10 月に Web で開催された 9th Meeting of the WHO Expert Working Group on Surveillance of Influenza Antiviral Susceptibility (AVWG) for the GISRS に参加し、抗インフルエンザ薬耐性株のサーベイランス強化に関する議論を行った。[高下恵美]

2. WHO FluNet へのインフルエンザウイルス国内流行状況に関する情報提供

WHO によるインフルエンザウイルスサーベイランスのためのグローバルデータベース FluNet に、国内のインフルエンザウイルス流行状況について情報提供するため、毎週、WHO FluMart プラットフォームにインフルエンザを含む呼吸器ウイルスの国内検出数をアップロードした。[高下恵美]

3. WHO 世界インフルエンザ監視対応システムにおける流行株の 2 次元的抗原性分析への参加と協力

WHO 世界インフルエンザ監視対応システムメンバーである Cambridge 大学グループが開発した 2 次元的ウイルス抗原性分析法 (Cartography 法) を用いて流行株の解析をするため、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 型ウイルスの抗原解析データおよび遺伝子解析データを Cambridge 大学へ提供した。これらの成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定に貢献した。[岸田典子、桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、永田志保、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹]

4. ワクチン株選定のためのウイルス進化・適応予測分析への協力

ウイルス進化・適応予測分析を行うため、2 つの予測モデリング・グループ (Fred Hutchinson Cancer Research Center & University of Basel team および Institute for Advanced Study, University of Glasgow & University of Cologne team) へ A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 型ウイルスの抗原解析データ

および遺伝子解析データを提供した。得られた成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定の参考資料とされた。[岸田典子、桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、菅原裕美、渡邊真治、長谷川秀樹]

5. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定会議への参画

9月と2月にWHOジュネーブ本部主催によるインフルエンザワクチン株選定会議(web会議)へ出席し、国内および日本周辺諸国から収集したウイルスの性状、薬剤耐性株の検出状況、ワクチン接種後の抗体保有状況、交差反応性などの情報提供をし、次年度のワクチン株選定を海外のWHOインフルエンザ協力センターと共に行った。[渡邊真治、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

6. インフルエンザワクチンの品質管理に関するWHO関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

WHO ERLの一員として7月及び1月にweb会議として開催されたインフルエンザワクチンの品質管理に関する国際会議に出席し、技術改良にかかるERL間の共同研究結果を報告すると共に、ワクチンの品質管理における課題等について協議した。また、WHO主催によるワクチン製造所とERLを含む関係者の電話会議に参加して情報提供を行った。[原田勇一、佐藤佳代子、嶋崎典子、高橋仁、藤崎誠一郎、中内美名、高山郁代、中村一哉、仲山紀子、長谷川秀樹]

7. WHO-ERL ID-MS 法技術会議への参加

ID-MS法の国内導入を開始したことを受け、WHO-ERL及び米国CDCの間で定期的に開催されているID-MS法技術会議(web会議)に参加し、試験成績の共有並びに技術的な議論を行った。

8. Pandemic Influenza Vaccine Response (PIVR)関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

インフルエンザパンデミックに対する国際共同研究として、これまで個別に取り組まれて来た、標準試薬制定にかかる品質管理手法の改良が、その他のより広範なパンデミック対策を包含する、WHO主催のPIVRに統合されることになった。WHO-ERLがPIVRに協力することを決定したことを受け、

PIVR会議及び付随する技術的ワーキンググループに参加し、パンデミック対応に関する議論、研究結果の共有を行った。[原田勇一、長谷川秀樹]

研修業務

1. 検査機関に対する検査能力・精度管理等の向上を目的とした講習会(地衛研基礎講習会)への参画1

感染研主催の「令和2年度地衛研基礎講習会」に講師として参画し、インフルエンザウイルス分離培養の基礎に関する講義を行った。[中村一哉]

2. 検査機関に対する検査能力・精度管理等の向上を目的とした講習会(地衛研基礎講習会)への参画2

感染研主催の「令和2年度地衛研基礎講習会」に講師として参画し、ウイルス検査室の運用に関する講義を行った。[影山努]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1. Sato M, Takashita E, Katayose M, Nemoto K, Sakai N, Hashimoto K, Hosoya M. Detection of variants with reduced baloxavir marboxil susceptibility after treatment of children with influenza A during the 2018-2019 influenza season. J Infect Dis. 2020 Jun 16;222(1):121-125.

2. Ito H, Nishimura H, Kisu T, Hagiwara H, Watanabe O, Kadji FMN, Sato K, Omiya S, Takashita E, Nobusawa E. Low response in eliciting neuraminidase inhibition activity of sera among recipients of a split, monovalent pandemic influenza vaccine during the 2009 pandemic. PLoS One. 2020 May 13;15(5):e0233001.

3. Takashita E, Yasui Y, Nagata S, Morita H, Fujisaki S, Miura H, Shirakura M, Kishida N, Nakamura K, Kuwahara T, Sugawara H, Sato A, Akimoto M, Kaido T, Watanabe S, Hasegawa H; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of a Peramivir-Resistant Influenza B/Yamagata-

Lineage Virus Imported from Indonesia in Aichi, Japan, March 2019. *Jpn J Infect Dis.* 2020 Sep 24;73(5):386-390.

4. [Takashita E](#), Abe T, [Morita H](#), [Nagata S](#), [Fujisaki S](#), [Miura H](#), [Shirakura M](#), [Kishida N](#), [Nakamura K](#), [Kuwahara T](#), Mitamura K, Ichikawa M, Yamazaki M, [Watanabe S](#), [Hasegawa H](#); Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a PA E23K substitution detected from a child without baloxavir treatment. *Antiviral Res.* 2020 Aug;180:104828.

5. Harada N, Shibata W, Koh H, [Takashita E](#), [Fujisaki S](#), Okamura H, Nanno S, Yamada K, Nakamae H, Hino M, Kakeya H. Successful treatment with baloxavir marboxil of a patient with peramivir-resistant influenza A/H3N2 with a dual E119D/R292K substitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a case report. *BMC Infect Dis.* 2020 Jul 6;20(1):478.

6. [Takashita E](#), [Fujisaki S](#), Yokoyama M, [Shirakura M](#), [Morita H](#), [Nakamura K](#), [Kishida N](#), [Kuwahara T](#), Sato H, Doi I, Sato Y, Takao S, Shimazu Y, Shimomura T, Ito T, [Watanabe S](#), [Odagiri T](#), The Influenza Virus Surveillance Group Of Japan. In Vitro Characterization of Multidrug-Resistant Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses Carrying a Dual Neuraminidase Mutation Isolated from Immunocompromised Patients. *Pathogens.* 2020 Sep 2;9(9):725.

7. [Takashita E](#). Viruses Resistant to Oseltamivir or Baloxavir: What Do the Data Reveal About Resistance? *Influenza-Advances in Diagnosis and Management.* 2020:221-229.

8. Huddleston J, Barnes JR, Rowe T, Xu X, Kondor R, David E, Wentworth DE, Whittaker L, Ermetal B, Daniels RS, McCauley JW, [Fujisaki S](#), [Nakamura K](#), [Kishida N](#), [Watanabe S](#), [Hasegawa H](#), Barr I, Subbarao K, Barrat-Charlaix P, Neher RA, Bedford T. Integrating genotypes and phenotypes improves long-term forecasts of seasonal influenza A/H3N2 evolution. *Elife.* 2020 Sep 2;9:e60067.

9. Sano K, [Saito S](#), Suzuki T, Kotani O, Ainai A, van Riet E, Tabata K, Saito K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Maruno T, Usami K, Uchiyama S, Ogawa-Goto K, [Hasegawa H](#). An influenza HA stalk reactive polymeric IgA antibody exhibits anti-viral function regulated by binary interaction between HA and the antibody. *PLoS One.* 7;16(1):e0245244. 2021.

10. [Takayama I](#), Semba S, Yokono K, [Saito S](#), [Nakauchi M](#), Kubo H, Kaida A, Shiomi M, Terada A, Murakami K, Kaji K, Kiya K, Sawada Y, Oba K, Asai S, Yonekawa T, Watanabe H, Segawa Y, Notomi T, [Kageyama T](#). Clinical evaluation of fully automated molecular diagnostic system “Simprova” for influenza virus, respiratory syncytial virus, and human metapneumovirus. *Sci Rep.* 10(1):13496. 2020.

11. [Takayama I](#), Nguyen GB, Dao XC, Pham TT, Dang QT, Truong TP, Do VT, Pham TPT, [Fujisaki S](#), [Odagiri T](#), [Hasegawa H](#), Nakajima N. Next-Generation Sequencing Analysis of the Within-Host Genetic Diversity of Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses in the Upper and Lower Respiratory Tracts of Patients with Severe Influenza. *mSphere.* 6(1):e01043-20. 2021.

12. Matsuyama S, Nao N, Shirato K, Kawase M, [Saito S](#), [Takayama I](#), Nagata N, Sekizuka T, Katoh H, Kato F, Sakata M, Tahara M, Kutsuna S, Ohmagari N, Kuroda M, Suzuki T, [Kageyama T](#), Takeda M. Enhanced Isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing Cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 117(13):7001-7003, 2020.

13. Okamaoto K, Shirato K, Nao N, [Saito S](#), [Kageyama T](#), [Hasegawa H](#), Suzuki T, Matsuyama S, Takeda M. An Assessment of Real-Time RT-PCR Kits for SARS-CoV-2 Detection. *Jpn J Infect Dis.* 73(5):366-368, 2020.

14. Shirato K, Nao N, Kawase M, [Kageyama T](#). An ultra-rapid real-time RT-PCR method for detecting human orthopneumovirus using PCR1100. *Jpn J Infect Dis.* 74(1):29-34, 2021.

15. Shirato K, Nao N, Matsuyama S, Takeda M, Kageyama T. An ultra-rapid real-time RT-PCR method using the PCR1100 to detect Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Jpn J Infect Dis.* 73(6):465-468, 2020.
16. Takagi Y, Imamura T, Endo S, Hayashi K, Akiyama S, Ikuta Y, Kawaguchi T, Sumita T, Katori T, Hashino M, Saito S, Odagiri T, Oba K, Kuroda M, Kageyama T. Neurogenic pulmonary edema following febrile status epilepticus in a 22-month-old infant with multiple respiratory virus co-detection: a case report. *BMC Infect Dis.* .20(1):388-394, 2020.
17. Sekizuka T, Itokawa K, Kageyama T, Saito S, Takayama I, Asanuma H, Nao N, Tanaka R, Hashino M, Takahashi T, Kamiya H, Yamagishi T, Kakimoto K, Suzuki M, Hasegawa H, Wakita T, Kuroda M. Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections in the Diamond Princess cruise ship outbreak. *Proc Natl Acad Sci USA.* 117 (33) 20198-20201, 2020.
18. Yamagishi T, Ohnishi M, Matsunaga N, Kakimoto K, Kamiya H, Okamoto K, Suzuki M, Gu Y, Sakaguchi M, Tajima T, Takaya S, Ohmagari N, Takeda M, Matsuyama S, Shirato K, Nao N, Hasegawa H, Kageyama T, Takayama I, Saito S, Wada K, Fujita R, Saito H, Okinaka K, Griffith M, Parry AM, Barnetson B, Leonard J, Wakita T. Environmental sampling for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 during COVID-19 outbreak in the Diamond Princess cruise ship. *J Infect Dis.* 222(7):1098-1102, 2020.
19. Arima Y, Shimada T, Suzuki M, Suzuki T, Kobayashi Y, Tsuchihashi Y, Nakamura H, Matsumoto K, Takeda A, Kadokura K, Sato T, Yahata Y, Nakajima N, Tobiume M, Takayama I, Kageyama T, Saito S, Nao N, Matsui T, Sunagawa T, Hasegawa H, Ohnishi M, Wakita T. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection among Returnees to Japan from Wuhan, China, 2020. *Emerg Infect Dis.* 26(7):1596-1600, 2020.
20. Noriko Shimasaki and Hideaki Morikawa. Prevention of COVID-19 Infection with Personal Protective Equipment. *Journal of Disaster Research.* 16(1), p61-69, 2021.
21. Takahashi H, Fujimoto T, Horikoshi F, Uotani T, Okutani M, Shimasaki N, Hamamoto I, Odagiri T, Nobusawa E. Determination of the potency of a cell-based seasonal quadrivalent influenza vaccine using a purified primary liquid standard. *Biologicals,* 68:32-39, 2020.
22. Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhashi K, Mizukami T, Hamaguchi I. Immunogenicity and Toxicity of Different Adjuvants Can Be Characterized by Profiling Lung Biomarker Genes After Nasal Immunization. *Front Immunol.* 2020 Sep 11;11:2171.
23. Miyakawa K, Jeremiah SS, Ohtake N, Matsunaga S, Yamaoka Y, Nishi M, Morita T, Saji R, Nishii M, Kimura H, Hasegawa H, Takeuchi I, Ryo A. Rapid quantitative screening assay for SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using HiBiT-tagged virus-like particles. *J Mol Cell Biol.* 2020 Nov 5;12(12):987-990.
24. Kobayashi Y, Kato H, Yamagishi T, Shimada T, Matsui T, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Morikawa S, Hasegawa H, Saijo M, Oishi K; SFTS Epidemiological Research Group Japan. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome, Japan, 2013-2017. *Emerg Infect Dis.* 2020 Apr;26(4):692-699.
25. Fukuyama S, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Nakajima N, Gregg RW, Katsura H, Tomita Y, Maemura T, da Silva Lopes TJ, Watanabe T, Shoemaker JE, Hasegawa H, Yamayoshi S, Kawaoka Y. Pathogenesis of Influenza A(H7N9) Virus in Aged Nonhuman Primates. *J Infect Dis.* 2020 Sep 1;222(7):1155-1164.
26. Yamaoka Y, Matsunaga S, Jeremiah SS, Nishi M, Miyakawa K, Morita T, Khatun H, Shimizu H, Okabe N, Kimura H, Hasegawa H, Ryo A. Zika virus protease induces caspase-independent pyroptotic cell death by directly

cleaving gasdermin D. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021 Jan 1;534:666-671.

27. Ainai A, van Riet E, Ito R, Ikeda K, Senchi K, Suzuki T, Tamura SI, Asanuma H, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Multihartina P, Setiawaty V, Pangesti KNA, Hasegawa H. Human immune responses elicited by an intranasal inactivated H5 influenza vaccine. *Microbiol Immunol.* 2020 Apr;64(4):313-325.

28. Emi-Sugie M, Shoda T, Futamura K, Takeda T, Ainai A, Hasegawa H, Saito H, Matsumoto K, Matsuda A. Robust production of IL-33 and TSLP by lung endothelial cells in response to low-dose dsRNA stimulation. *J Allergy Clin Immunol.* 2020 Dec;146(6):1449-1452.e2.

29. Nako T, Fukumoto H, Hasegawa H, Saeki H, Katano H. Functional Analysis of Trichodysplasia Spinulosa-Associated Polyomavirus-Encoded Large T Antigen. *Jpn J Infect Dis.* 2020 Mar 24;73(2):132-139.

30. Abe M, Katano H, Nagi M, Higashi Y, Sato Y, Kikuchi K, Hasegawa H, Miyazaki Y. Potency of gastrointestinal colonization and virulence of *Candida auris* in a murine endogenous candidiasis. *PLoS One.* 2020 Dec ;15(12):e0243223.

31. Takahashi T, Sano K, Suzuki T, Matsumura T, Sakai K, Tominaga T, Sato Y, Katano H, Hasegawa H. Virus-infected peripheral blood plasmablasts in a patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome. *Int J Hematol.* 2021 Mar;113(3):436-440.

2. 和文発表

1. 高下恵美 バロキサビルの耐性—基礎から。新型コロナウイルス感染症流行下のインフルエンザ診療ガイド 2020-21、2020:143-145.

2. 高下恵美 バロキサビル マルボキシシルは、NA 阻害薬耐性株に対しても有効なのでしょうか。インフルエン

ザ～その他の呼吸器感染症、2020;21(3):42.

3. 高下恵美 グローバル視点からみるインフルエンザの動向について教えてください。up-to-date 子どもの感染症、2020;8:10-11.

4. 大場邦弘, 仙波晶平, 五十嵐瑞穂, 小林真也, 鈴木大地, 秋山聡香, 小花奈都子, 川口隆弘, 林健太, 野田雅裕, 影山努. 呼吸性喘鳴を伴う下気道炎の乳児におけるβ2 刺激薬吸入の反応性と病原呼吸器ウイルスの検討. *アレルギー* 69(suppl): 304-304, 2020.

5. 影山 努. ウイルス感染症の検査診断法 コロナウイルス感染症. *臨床と微生物* 48(2), 120-124, 2021

6. 影山 努. 動物インフルエンザウイルスとインフルエンザパンデミック. *チャイルドヘルス* 23(11), 824-827, 2020.

7. 嶋崎典子: 室内でのウイルスや細菌に対する感染対策. *防菌防黴*, 49(1), 31-42, 2021.

II. 学会発表

1. 国際学会

1. Takashita E. Antiviral resistance: frequency of resistance, impact on patient, risk of transmission. APACI 2020 Webinar Series on Pandemic Preparedness, Web, December 2020.

2. 国内学会

1. 長谷川秀樹: シンポジウム 「インフルエンザ Up-to-Date」 第 94 回日本感染症学会、Web、2020 年 8 月

2. 長谷川秀樹: 新規不活化経鼻インフルエンザワクチンの開発 第 52 回日本小児感染症学会、Web、2020 年 11 月

3. 川上千春、七種美和子、清水耕平、小澤広規、宇宿秀三、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、岸田典子、渡邊真治: 過去 3 シーズンに流行した AH1pdm09 インフルエンザウイルスの解析 第 52 回日本小児感染症学会、

Web、2020年11月

4. 嶋崎典子：ウイルス感染対策における个人防护具・環境除菌の性能評価と適正使用 日本防菌防黴学会 令和2年度微生物汚染と対策に関する基礎講座、大阪 web、2020年12月。

5. 長谷川秀樹：シンポジウム4の座長と講演「Emerging infectious disease」 第24回日本ワクチン学会、愛知、2020年12月