

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」
研究課題「インフルエンザウイルス感染過程の解明
とその応用」

研究終了報告書

研究期間 平成13年12月～平成19年3月

研究代表者:河岡義裕
(東京大学医科学研究所、教授)

1 研究実施の概要

研究の背景とねらい

人類はこれまで多数の伝染病を克服してきたが、ウイルス疾患でその制圧に成功した例は天然痘、ポリオなどごく少数である。インフルエンザはその流行が社会全体の死亡率上昇を引き起こす伝染病で、その経済的損失は計り知れないにもかかわらず、未だに効果的な予防・治療・制圧対策が確立されていない。

インフルエンザウイルスのゲノムシーケンスは、1982年に最初のウイルスの全塩基配列が決定され、以来ポスト・シーケンスの時代に入っている。インフルエンザウイルスを構成する個々の蛋白質については、それらの合成、細胞内輸送、そして構造や機能について、かなり詳細な知識が集積している。

これら着実な基礎研究の進展がなされているにもかかわらず、それが必ずしもウイルス病原性の根本的な理解や効果的な予防・治療方法につながっていないのが現状である。そこで、本研究では、ウイルスと宿主との相互作用について分子レベルで理解を深めることを目的とした。

研究成果

I. インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構の解明

ー8種類のRNA分節は、どのようにして粒子に取り込まれるのか？ー

ウイルスは、自身の遺伝情報をもつ核酸と、それを包む蛋白質の殻から成る。この“微生物”は、その単純な構造にもかかわらず、宿主細胞という工場において効率良く自分のコピーを作り出す。ウイルスは、細胞に侵入後、細胞内で多数のウイルスゲノムとウイルス蛋白質を合成した後に、それらのパーツがアセンブリーされて、自身のコピーである子孫ウイルスが製造される。しかし、完全な子孫ウイルスを作るためには、宿主細胞内の数多くの核酸プールの中からウイルスゲノムだけを選択的に釣り上げてくるメカニズムが必要である。インフルエンザウイルスのゲノムのパッケージングメカニズムについてはほとんどわかっておらず、ウイルス学の古典的命題であった。

i) 効率の良いウイルス粒子形成には8種類のRNA分節が必要である。

我々が開発したインフルエンザウイルスの人工合成法（リバーシ・ジェネティクス）を用いて、分節が6本、あるいは7本しかない変異ウイルスを作出し、それらの粒子形成効率を野生型ウイルス（8分節）と比較した。その結果、効率良くウイルス粒子を形成するためには8種類全てのRNA分節が必要であることが明らかになった。この結果は、8種類のRNA分節が選択的に取り込まれるメカニズムが存在することを示唆している。

ii) 8種類のRNA分節には分節固有のパッケージング・シグナルが存在する。

リバーシ・ジェネティクスを用いてウイルスRNA分節の粒子への取り込みに必要な部分、すなわちパッケージング・シグナルについて調べた。いずれの分節も、翻訳領域の両末端とそれに隣接する分節特異的非翻訳領域にパッケージング・シグナルが存在することが明らかとなった。すなわち、各RNA分節には、それぞれ異なるパッケージング・シグナルが存在することがわかった。

iii) インフルエンザウイルス粒子には、長さの異なる 8 本のウイルス RNA-蛋白質複合体が存在する。

インフルエンザウイルスの RNA がどのようにウイルス粒子に取り込まれているかについて、電子顕微鏡をもちいて形態学的に解析した。その結果、ウイルス粒子内に太さ約 15nm の棒状構造物が含まれている様子が観察された。この棒状構造物は出芽中のウイルス粒子の先端でエンベロープと結合し、ウイルスの出芽方向と平行に存在していた。ひとつのウイルス粒子内に存在する棒状構造物の最大数は 8 つで、ウイルス粒子の多くは、中心に 1 つ、その周囲に 7 つという特徴的な配置をとった 8 つの構造物を含んでいた。ウイルス粒子の連続超薄切片を作製し解析したところ、8 本の棒状構造物の長さは同一ではないことがわかった。さらに、電子顕微鏡トモグラフィ法を用いた解析からも、棒状構造物の長さが異なるという結果が得られた。

以上の成績から、インフルエンザウイルスの 8 種類の異なる RNA 分節は一つのセットとしてウイルス粒子に取り込まれ、8 種類の RNA 分節の集合には各分節の両末端に存在する分節固有の構造が重要であることが明らかになった。

II. インフルエンザウイルス・ゲノムのパッケージング・シグナルの知見に基づく新規ワクチンの開発

i) 次世代インフルエンザ弱毒生ワクチンの開発

現在広く用いられている不活化インフルエンザワクチンは、呼吸器に効果的な粘膜免疫を誘導できない。そのため、症状の軽減には効果を発揮するが、感染そのものの予防効果には限界がある。より効果の高いワクチンを目指し、鼻腔噴霧型の弱毒生ワクチンが米国で実用化された。このワクチンは A 型 2 種類と B 型 1 種類のウイルスを混合したワクチンである。したがって、ウイルス間の干渉作用（特に A 型ウイルスによる B 型ウイルスの増殖抑制）によるワクチン効果の減少が指摘されている。そこで、この問題点を克服するために、B 型ウイルスの表面糖蛋白質（HA と NA）をもつ A 型キメラウイルスを作製し、そのワクチンとしての可能性を検討した。HA と NA、いずれの分節も A 型ウイルスの翻訳領域を B 型ウイルスのものに置き換えたが、パッケージング・シグナルは残した。これらの HA、NA キメラ分節をもつ A 型ウイルスをリバースジェネティクスにより作製したところ、この A/B キメラウイルスは、マウスにおいて B 型ウイルス特異的な中和抗体を誘導するとともに、B 型ウイルスの致死的な攻撃を回避する感染防御免疫を付与することができた。このようなキメラウイルスは、A 型ワクチンウイルスと干渉しない B 型ワクチンウイルスとして応用できる。

ii) インフルエンザウイルスを基にした多価ワクチンの開発

一度に複数の感染症に対する免疫を付加させる混合ならびに多価ワクチンの需要は高い。現在、利用されている混合・多価ワクチンならびに同時投与が可能なワクチンはいくつかあるが、MMR（三種混合ワクチン；はしか、風疹、おたふく風邪）を除いては不活化ワクチンの組み合わせが主である。多くのウイルス感染症において、自然感染に倣って投与される生ワクチンが不活化ワクチンよりも効果的であるが、弱毒生ワクチンでは、ウイルス同士の干渉作用によって免疫が誘導されないことがあるため、一ヶ月以上の間隔において単品投与することが基本である。そこで、呼吸器疾患を引き起こすパラインフルエンザウイルスの感染防御抗原を発現する組み換えインフルエンザウイルスを作製することによりウ

イルス性呼吸器疾患に対する多価ワクチンの開発を試みた。

インフルエンザウイルスの NA は感染防御にはそれほど重要ではないので、NA 遺伝子の翻訳領域をパラインフルエンザ（センダイウイルス）の感染防御抗原である HN 蛋白質遺伝子に置き換えた組み換えインフルエンザウイルスを作製した。このとき、HN 遺伝子を持つ分節がウイルス粒子に取り込まれるよう NA 分節のパッケージング・シグナルをこの組み換え HN 分節に導入した。作製した組み換えウイルスは、通常のインフルエンザウイルスと同様に発育鶏卵においてよく増殖し、感染細胞においてインフルエンザウイルスの HA とパラミクソウイルスの HN の両抗原を発現した。また、発育鶏卵で 10 代継代を重ねても増殖効率に変化は見られず、HA と HN の両抗原の発現も安定していた。しかも、マウスでは組み換えウイルスの基にしたインフルエンザウイルスが致死的なものに対して、組み換えウイルスは弱毒化していた。さらに、組み換えウイルスを経鼻接種したマウスでは、両ウイルスに対して有意な抗体価の上昇が見られた。これらのマウスを、致死量のインフルエンザあるいはパラインフルエンザウイルスで攻撃したところ、いずれのウイルスに対しても 100% 生残した。以上の成績、この組み換えウイルスが 2 つの異なるウイルス感染症に対して有効な弱毒生ワクチンであることを示している。

III. スペイン風邪ウイルスの病原性発現機構

1918 年に世界的な大流行を起こしたスペイン風邪は、世界中で 2,000 万人以上の死者を出した。当時は、ウイルスを分離培養する技術が確立されていなかったため、その流行を引き起こしたインフルエンザウイルスは現存しない。そのため、なぜこのインフルエンザウイルスが、通常の流行とは異なりこれほどの大流行を引き起こしたのか、その実態は謎であった。しかし、最近、当時亡くなった患者の肺病理検体および永久凍土に埋葬された遺体からインフルエンザウイルス遺伝子が抽出され、その塩基配列が決定された。

そこで、リバーズ・ジェネティクスを用いて、HA と NA 遺伝子がスペイン風邪由来、その他の遺伝子が現在ヒトで流行しているインフルエンザウイルス由来の人工ウイルスを作製し、その病原性をマウスで調べた。その結果、現在ヒトで流行しているインフルエンザウイルスは、 10^7 感染価を接種してもマウスは死亡しなかったが、HA と NA がスペイン風邪由来のウイルスに感染したマウスは、死亡した。さらに、現在ヒトで流行しているウイルスに感染したマウスの肺では、ウイルス感染細胞がごく一部散見されるだけで、ほとんど病変は見られなかったが、HA と NA がスペイン風邪由来のウイルスに感染したマウスでは、肺胞全体に感染が広がっており、脈間周囲組織への強い好中球浸潤が見られた。これに伴って、肺胞組織の崩壊が見られ強い出血病変が観察された。スペイン風邪の流行時、急性肺出血を起こす例が急性症状の特徴のひとつとして報告されている。また、HA のみスペイン風邪由来のウイルスも HA と NA がスペイン風邪由来のウイルスと同様の病原性を示したことから、スペイン風邪ウイルスの HA がその病原性発現に重要な役割を示していることが明らかになった。

次に、すべての遺伝子がスペイン風邪ウイルス由来のインフルエンザウイルスをリバーズ・ジェネティクスで人工合成し、サルにおける感染実験を行った。対照として用いた通常のヒト由来インフルエンザウイルスに感染したサルでは、ほとんど症状は認められず、病理学的にも軽度の炎症しか認められなかった。一方、スペイン風邪ウイルスに感染したサルは、感染 6 日および 8 日目において臨床症状の悪化から安楽死を余儀なくされた。ウイルスは、一部のサルの脾臓と心臓から分離されたが、主な増殖部位は呼吸器であった。組織病理学的には、いずれのウイルスに感染した個体でも一部の肺葉に限局した肺炎が観察された後（接種後 3 日目）、通常のヒト由来ウイルスではウイルス抗原の消失と治癒

傾向が見られたが、スペイン風邪ウイルスでは殆どの肺葉への病巣拡大とウイルス抗原発現が顕著であった（接種後 8 日目）。後者の病巣部分には、水腫や出血、線維素の析出や炎症産物の蓄積、細気管支炎などが観察された。これまでにサルに致死的な感染を起こすインフルエンザウイルスは報告がなく、スペイン風邪ウイルスは明らかにその病原性が通常のウイルスとは異なることが明らかになった。

尚、スペイン風邪ウイルスの遺伝子を持ったインフルエンザウイルスを使った研究は、日本には稼働中の P4 施設がないため、カナダ科学研究所のグループとの共同実験として行った。

IV. H5N1 インフルエンザウイルスのレセプター特異性

すべてのインフルエンザウイルスはシアル酸を末端に持つ糖鎖をレセプターとして認識するが、鳥ウイルスとヒトウイルスはすこし構造の異なるシアリルオリゴ糖を認識する。すなわち、鳥ウイルスはシアル酸がガラクトースに $\alpha 2-3$ 結合 (SA $\alpha 2, 3$ Gal) したものを特異的に認識するが、ヒトウイルスは SA $\alpha 2, 6$ Gal を特異的に認識する。一方、ヒトの気管上皮細胞表面には SA $\alpha 2, 6$ Gal が多く存在する。それに対し、我々は、鳥ウイルスが増殖するカモの腸管上皮細胞の細胞表面には SA $\alpha 2, 3$ Gal が豊富に存在することを明らかにした。このレセプター特異性の違いとレセプター分子の有無が鳥ウイルスが容易にヒトに感染を引き起こさない理由と考えられてきた。ところが、1997 年以来、高病原性鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染し、100 名を超える死亡者を出している。我々は、この矛盾を明らかにするために、ヒト呼吸器におけるインフルエンザウイルスのレセプター分布をシアリルオリゴ糖に特異的なレクチンを用いて解析した。

その結果、ヒトの呼吸器の深部には SA $\alpha 2, 6$ Gal（ヒトウイルスのレセプター）のみならず SA $\alpha 2, 3$ Gal（鳥ウイルスのレセプター）が存在することがわかった。一方、上部気道の細胞では、SA $\alpha 2, 6$ Gal レセプターのみ発現していた。ヒト呼吸器におけるインフルエンザウイルスレセプターの分布は、H5N1 ウイルスに感染した患者におけるウイルス増殖とよく一致し、H5N1 ウイルス感染症の病態、すなわち重度の下部呼吸器疾患をよく説明している。ヒト呼吸器におけるヒト型と鳥型レセプターの分布の相違は、鳥ウイルスがヒトからヒトへ伝播しにくい原因の一つであると考えられる。すなわち、H5N1 ウイルスがヒトからヒトへ効率よく伝播するためには、ウイルスの HA がヒトの上部気道に多く存在するヒト型レセプターを認識できるように変異する必要がある。

次に H5N1 ウイルスがヒト型レセプターを認識するように変化するために必要なアミノ酸変異の同定を試みた。鳥由来およびヒト由来 H5N1 ウイルスのレセプター特異性を調べたところ、調べた鳥由来 H5N1 ウイルスはすべて SA $\alpha 2, 3$ Gal のみを認識したが、一部のヒト由来 H5N1 ウイルスは SA $\alpha 2, 3$ Gal のみならず SA $\alpha 2, 6$ Gal も認識した。そこで、SA $\alpha 2, 3$ Gal しかなかった H5N1 ウイルスのレセプター認識分子である HA 蛋白質に変異を導入し、SA $\alpha 2, 6$ Gal 認識に関与するアミノ酸残基の同定を試みた。その結果、HA 分子の 2 つのアミノ酸が H5N1 ウイルスのヒト型レセプター認識に関与していることがわかった。得られた情報は、分離ウイルスのヒトでの増殖効率の予測のための分子マーカーとなる。

V. エボラウイルスの高病原性発現機構

i) エボラウイルスの粒子形成機構

エボラウイルスは人を含む霊長類に感染し、時に 100%に近い致死率の出血熱を引き起こ

す。このような重篤な疾病を引き起こすにも関わらず、現在のところ、ワクチンも抗ウイルス薬も存在しない。その開発には、エボラウイルスの増殖機構を明らかにする必要がある。そこで、哺乳類細胞を用いたエボラウイルス蛋白質発現系を開発し、アセンブリーから出芽に至るウイルス粒子形成機構の解析を行った。その結果、マトリックス蛋白質 VP40 がフィラメント状ウイルス粒子形成の中心的な役割を担うことがわかった。また NP, VP24, VP35 の 3 種類の構造蛋白質が螺旋状ヌクレオカプシド様構造物の形成に必須であることを明らかにした。さらに、ヌクレオカプシドの細胞質内輸送ならびにウイルス粒子への取り込みには、VP40 が関与していることがわかった。それらのステップには、NP-VP40 間の相互作用が重要であることも判明した。すなわち VP40 は、ウイルス粒子の殻を形成するだけでなく、エボラウイルス蛋白質を集合させるオーガナイザーとして、ウイルス粒子形成機構の中心として機能していることが明らかになった。最後に、感染性エボラウイルスを用いて、出芽様式の解析を行った。他のフィラメント状構造をもつウイルス粒子は細胞膜から垂直に出芽することが知られているが、エボラウイルスの場合、細胞膜から水平に浮上するように出芽していることが明らかになった。この独特な出芽様式が、エボラウイルスの増殖効率や強毒性に関与しているのかもしれない。

ii) エボラウイルス感染における抗体依存性感染増強現象と病原性

エボラウイルスの強い病原性には、エボラウイルスの表面糖蛋白質 (GP) の機能が重要であることが示唆されている。我々は、エボラウイルス GP に対する抗体の中に、ウイルスの感染性を増強するものが存在することを発見した。この感染増強抗体はエボラ出血熱に感染し回復した患者の血清中にも認められるので、実際のエボラウイルス感染においても感染増強抗体が産生されることが判明した。この抗体依存性感染増強現象 (Antibody-dependent enhancement : ADE) はエボラウイルスが体内の多くの臓器で急激に増殖できるメカニズムの一つである可能性がある。

これまでに知られている ADE のメカニズムの殆どは Fc 受容体依存性である。ウイルスに結合した抗体が Fc 受容体を介して架橋することによって、ウイルスの感染性を増強すると考えられている。しかし、エボラウイルスの ADE は Fc 受容体を持たない霊長類由来の腎臓の細胞でも起こる。詳細な解析を行った結果、エボラウイルスの ADE はこれまでに知られていなかった新しいメカニズムで起こる事が判明した。ADE に必要な血清成分は補体成分 C1q であり、GP に対する抗体は C1q と細胞表面の C1q 受容体を介してエボラウイルスの感染性を増強するのである。抗体と C1q による架橋がウイルスの吸着効率を高める事によって、細胞に感染するウイルス量が増加すると考えられる。C1q 受容体は様々な種類の細胞に広く分布しており、エボラウイルスの主要な標的細胞である血管内皮細胞、肝細胞およびマクロファージにも存在する。以上の成績は、エボラウイルスワクチンおよび抗体を用いた受動免疫法の開発を行う上で ADE を考慮する必要があることを示している。

iii) エボラウイルス感染の組織特異性と C 型レクチン

粘膜や傷口から体内に侵入したエボラウイルスはまず、マクロファージ、単球および樹状細胞等に感染する。これらの細胞は抗原提示細胞と呼ばれ、ウイルスに対する免疫応答を正常に誘導するための初期段階に非常に重要な役割を果たす。ウイルスが感染すると、これらの細胞は機能障害あるいは異常反応を起こし、正常な免疫応答を誘導できなくなる事がエボラウイルスの強い病原性に関わっていると考えられている。そこで、フィロウイルスの GP には多数の糖鎖が付加されている事に着目し、ウイルスの細胞への侵入時における C 型レクチンの役割を調べた。その結果、ヒトのマクロファージや未成熟樹状細胞に発現している galactose/*N*-acetylgalactosamine に結合する C-type レクチン (hMGL) がマクロ

ファージへ本ウイルスの感染効率の上昇に寄与しており、病原性発現に関与している可能性が示唆された。

iv) Tyro3 ファミリー分子を介したエボラウイルス及びマールブルグウイルスの細胞侵入

エボラウイルスおよびマールブルグウイルス（以下フィロウイルス）の感染に関わる宿主因子として、これまで数種のカルシウム依存性レクチンが報告されているが、これらレクチンの発現分布はマクロファージや樹状突起細胞、血管内皮細胞などであり、フィロウイルスの幅広い感染域を説明できない。そこで多くの細胞に存在するフィロウイルスの感染に関わっている分子の同定を試みた。その結果、エボラウイルス低感受性の細胞を高感受性に変えるようなAx1という膜蛋白質を同定した。Ax1分子はエボラウイルスのみでなく、マールブルグウイルスのシュードタイプウイルスの感染にも関わる分子であった。Ax1分子に類似の分子としてDtk分子およびMer分子があり、これら3分子でTyro3ファミリーを形成している。Dtk分子およびMer分子についても解析を行ったところ、Dtk分子を発現させた細胞に対しシュードタイプウイルスの感染の増加が認められた。Ax1分子やDtk分子の発現分布はリンパ球以外であり、フィロウイルスの感染指向性と一致する。しかしながら、Ax1分子に依存しない感染経路も存在することがわかった。

v) マウスモデルにおけるエボラウイルス高病原性発現の分子基盤

エボラウイルスの病原性発現の分子基盤の一端を明らかにするために、感染マウスモデルは非常に有用なシステムである。そこで、エボラウイルスがマウスで致死的な感染を惹起する為に重要なウイルス側因子を同定し、その馴化の過程で起きた病原性獲得・発現の機序の解析を行った。その結果、NPとVP24の変異がマウスに対する強い病原性とマウスにおける増殖能を促進していることが明らかになった。また、NPとVP24の変異はIFN α/β による抗ウイルス活性に対する抵抗性に関与していることがわかった。これは、エボラウイルスにおいてウイルス蛋白質と病原性の関連が示された初めて研究成果である。

以上の研究により、エボラウイルスの増殖環における個々のウイルス蛋白質の機能、ならびにウイルス蛋白質間相互作用が明らかになった。ウイルス粒子形成機構の詳細をさらに明らかにすることで、今後、その機能や相互作用を阻害するような抗ウイルス剤開発につながると期待できる。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

インフルエンザウイルスが世界中の研究者が精力的に研究を行っているにもかかわらず、それが必ずしもウイルス病原性の根本的な理解や効果的な予防・治療方法につながっていない。その理由は、インフルエンザウイルスの増殖に関わるウイルス側と宿主細胞側の双方のゲノム機能の理解が未だ不十分であることだと考え、以下の2つの柱から成る研究を立案した。

【ウイルス粒子形成のメカニズム】

インフルエンザウイルスの粒子は、計9種類の蛋白質とこれら蛋白質をコードするゲノムRNA（8本に分節化している）から構成されている。インフルエンザウイルスが細胞に感染し子孫ウイルスを形成する際にはこれらのコンポーネントのすべてがウイルス粒子内に

「適切に」配置されなければならない。RNA ゲノム情報に従ってこの精緻なウイルス粒子形成を実現させているのは、複数のウイルス・コンポーネント間に生じる複数のインターアクションである。そのメカニズム — すなわち、粒子形成のメカニズム — は、本ウイルスの増殖を理解し、疾病コントロールを行う上でも重要であるにもかかわらず、その詳細はほとんどわかっていない。原因のひとつは、そのための適当な方法論がなかったためである。

そこで我々が世界に先駆けて開発した、プラスミドのみから完全なインフルエンザウイルス粒子を人工的に作出する方法 — リバース・ジェネティクス — を駆使して研究を展開することを計画した。この技術を用いると、インフルエンザウイルスを自由自在に設計することが可能で、望みのところに変異を導入したインフルエンザウイルスを簡単に作製することができる。しかも、その作出効率が極めて高いため、他の手法では取得困難であった致死の変異を持つウイルス粒子の生化学的解析すら可能とした。すなわち、この技術によって、インフルエンザウイルス・ゲノム産物の機能を、これまでのように個々の蛋白質レベルのみならず、ウイルス粒子そのもののレベルでも解析出来るようになったわけである。本研究では、本法を用いて、インフルエンザウイルスのゲノム情報とその遺伝子産物間の機能的インターアクションの関係を解明することを計画した。

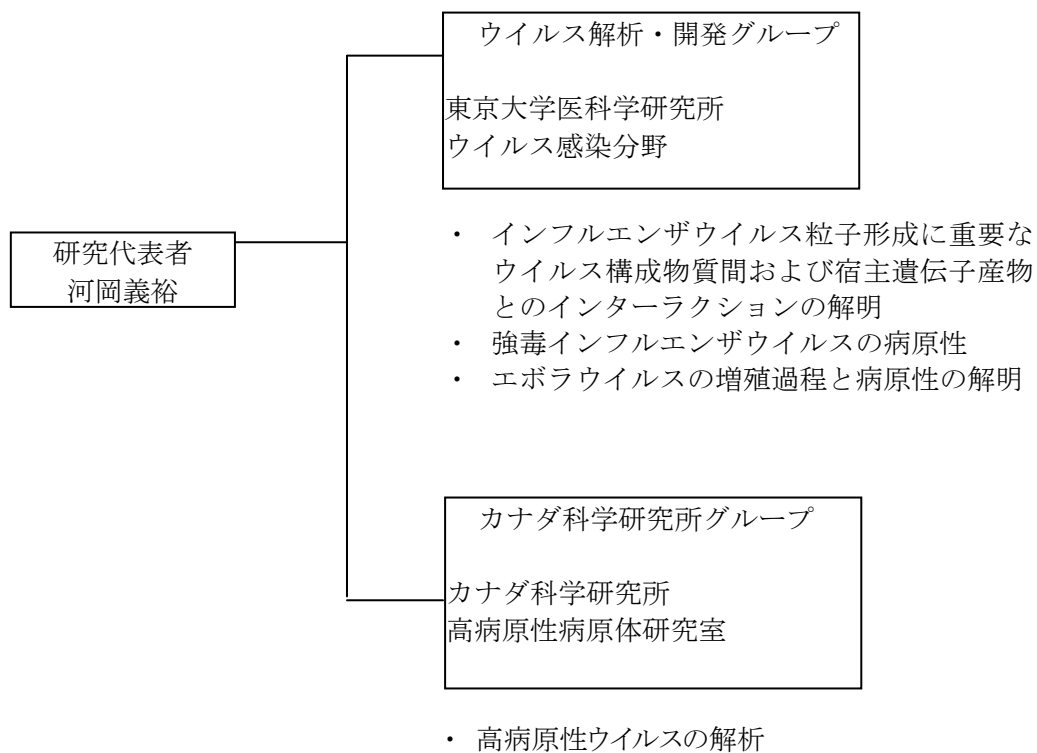
【ウイルス増殖に必要な宿主細胞遺伝子の機能】

細菌とは異なり、ウイルスの増殖には細胞の機能が必要である。ウイルスがどのようにヒトやその他の動植物に感染し病気を引き起こすかを理解するには、ウイルス感染に関与する細胞の遺伝子産物を体系的に同定し解析する必要がある。しかし、ウイルスの増殖には、多くの宿主細胞分子が関与していると考えられるが、その詳細はほとんどわかっていない。そこで、本研究では、さまざまなアプローチによりウイルス増殖に関与する宿主細胞分子の同定を計画した。

【高病原性ウイルスの病原性発揮のメカニズム】

本研究プロジェクトが始まってまもなく SARS の流行があった。そこで新興・再興ウイルス感染症の理解を深めることを目的として、高病原性ウイルスの研究を開始した。特に、エボラウイルスとスペイン風邪ウイルスが何故あれほどまでに強い病原性を発揮するのかについて、研究することを立案した。エボラウイルス、スペイン風邪ウイルスともに病原性が強いいためその研究には P 4 施設が必要である。しかしながら日本には稼働可能な P 4 施設がないためカナダ科学研究所の Heinz Feldmann 博士との共同研究を行うことにした。

(2)実施体制



3 研究実施内容及び成果

3.1. インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

ウイルスのような小さな生物でも、遺伝情報を DNA や RNA の形で次の世代へと正確に伝えていく。インフルエンザウイルスでは、そのゲノム RNA が 8 本に分かれて存在している。ウイルスが増殖するために必須の蛋白質は、8 本すべての RNA 分節上にコードされているため、感染性粒子が産生されるためには、8 種類すべての RNA 分節が細胞内に存在しなければならない。8 本に分かれた RNA 蛋白質複合体 (RNP 複合体) は、どのようなメカニズムでウイルス粒子内に取り込まれるのだろうか？分節化ゲノムのパッケージング機構の謎は、ウイルス学研究者に大きな課題として残されたままであった。

そのメカニズムに関しては、対立する 2 つの仮説が立てられていた。1 つは「ランダム」パッケージング説で、1 つのウイルス粒子内に取り込まれる RNP 複合体の数も種類もバラバラというものである。この仮説では、8 種類の RNP 複合体にはその取り込みに関与する「共通の目印」があり、その目印をもつ RNP 複合体は区別されることなく取り込まれるため、ウイルス粒子によって取り込んでいる RNP 複合体の数と種類が異なる、とされる。つまり、8 種類の RNP 複合体をすべて取り込んだウイルス粒子だけが増殖能を獲得するという仮説である。もう 1 つの仮説は「選択的」パッケージング説である。この仮説では、それぞれの RNP 複合体には「独自の目印」が存在しており、パッケージングの際にはその目印によって個々の RNP 複合体が区別され、8 種類の RNP 複合体がウイルス粒子内に取り込まれると予想される。しかしいずれの仮説についても、それを支持するような直接的な証拠は得られていなかった。

我々は、cDNA から人工的にインフルエンザウイルスを合成するリバーシジェネティクス法を用いて以下のような実験を行い、各 RNA 分節に独自の目印が存在することを見出した。

はじめに、NA RNA 分節を用いて様々な欠損領域を持つ変異 NA RNA 分節を作製した。他の 7 種類の RNA 分節とともに、変異 NA RNA 分節を用いてウイルスを人工合成し、どの変異 NA RNA 分節がウイルス粒子内に取り込まれ、どの変異 NA RNA 分節が取り込まれないのかを調べた。その結果、NA 遺伝子の翻訳領域の両末端に、NA RNA 分節がウイルス粒子内に効率よく取り込まれるために重要な領域 (パッケージングシグナル：Ψ) が

存在することが明らかになった。同様に、他の 7 種類の RNA 分節においても、翻訳領域の両末端にパッケージングシグナルが見つかった (図 1)。翻訳領域の塩基配列は各分節で異なっていることから、8 本の RNA 分節は、分節独自の目印を持っていると言える。以上の成績は、インフルエンザウイルスが 8 種類のゲノム RNA を選別して取り込む「選択的パッケージング説」を支持している。

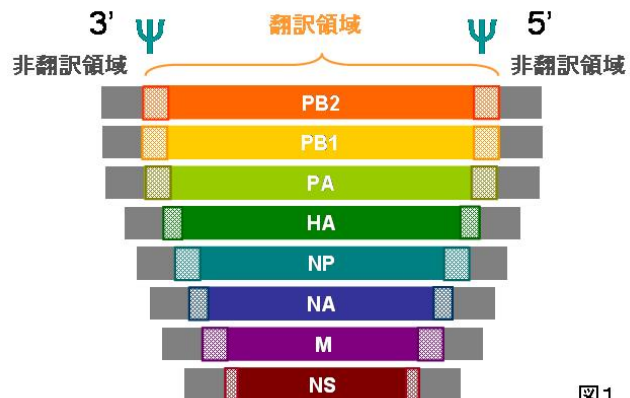


図1

電子顕微鏡による観察により選択的パッケージング説をさらに支持する証拠が見つかった。はじめに、A 型インフルエンザウイルスを感染させた細胞の超薄切片を作製し、細胞表面から出芽するウイルス粒子を異なる 2 方向から観察した。出芽ウイルス粒子の縦断面を

観察すると、ウイルス粒子内には太さ約 15nm の数本の RNP 複合体が含まれている様子が観察された (図 2 a)。続いて出芽するウイルス粒子を輪切りにしてみると、ウイルス粒子内部には、輪切りにされた RNP 複合体が規則的な配置で並んでいる様子が観察された。1 つのウイルス粒子内に含まれる RNP 複合体の数は 8 本で、7 本の RNP 複合体が中心の 1 本を取り囲むような規則的な配置をとっていた (図 2 b)。

さらにウイルス粒子の連続超薄切片を作製し、粒子内部の 8 本の RNP 複合体の長さを調べたところ (図 3)、それらはそれぞれ長さが異なるということが明らかになった。RNP 複合体の長さは各 RNA 分節の塩基数に応じて異なることから、以上の観察結果は、規則的な配置に並べられた異なる種類の 8 本の RNP 複合体が個々のウイルス粒子内に取り込まれることを示唆している。

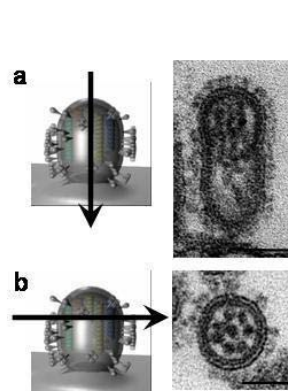


図2

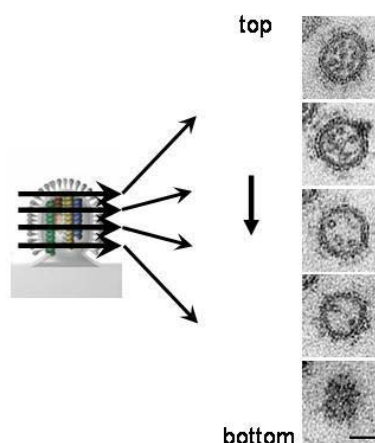


図3

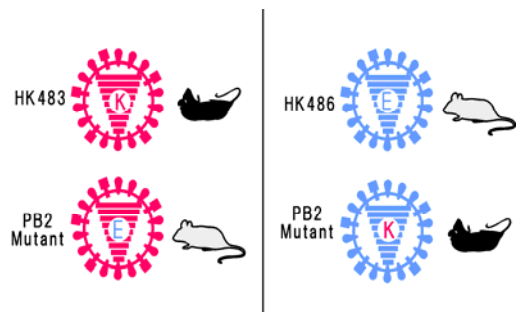
以上、各分節に独自のパッケージングシグナルが存在することや、個々のウイルス粒子が規則的に並ぶ 8 本の RNP 複合体を取り込むという結果から、インフルエンザウイルスのゲノムパッケージングは、8 種類 8 本の RNP 複合体が規則的に配置され、それが 1 つのセットとしてウイルス粒子に取り込まれるものと考えられる。このようなパッケージングメカニズムは、異なる種類の宿主動物 (ヒト、ブタ、トリ) から分離されたウイルス株でも広く保存されており、A 型インフルエンザウイルスが種を存続させるために共有する重要なメカニズムであると考えられる。

今回解明したゲノムパッケージング機構は、8 本の各 RNP 複合体が特異的に会合していることを示しており、この会合を阻止すればウイルス増殖を抑制することが出来ると考えられる。従って、ゲノムパッケージングのステップは新規抗インフルエンザ薬開発のためのターゲットとなる。

2. 高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスの哺乳類における病原性発現に関わる因子 ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

1997 年に香港で、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスが流行し、18 人が感染し 6 人が亡くなった。この流行により、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスが直接ヒトに感染することが示され、鳥が新たなインフルエンザパンデミックを引き起こす直接的な源となりうることを示唆された。その後、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスはほぼ毎年のように出現し、多大な被害を及ぼした。さらに 2003 年 12 月以降、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスはアジア各国およびヨーロッパやアフリカでも流行し、多くの家禽が死亡あるいは殺処分された。また、ヒトへの感染も報告されており、2006 年 10 月現在、256 名もの感染が確認され、そのうち 151 名が亡くなっている。このウイルスは、未だヒトからヒトへ効率よく伝播するには至っていないが、世界的な大流行を引き起こす恐れがある。しかしながら、この高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスがなぜこのような強い病原性を示すのか、そのメカニズムはいまだ解明されていない。そこで、哺乳動物における高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスの病原性発現に焦点を当てて、その強い病原性の発現および制御に関わるウイルス遺伝子および蛋白質の同定とその機能の解明を試みた。

1997 年にヒトから分離されたすべての香港 H5N1 ウイルスは、ニワトリに対して強毒で、全身感染を引き起こして 36 時間以内にニワトリを殺した。ところが、マウスでは、強い病原性を示すウイルスと、そうではないウイルスに分かれた。マウスに対して強い病原性を示す香港 H5N1 ウイルス A/Hong Kong/483/97 (HK483) は、たった 1 個のウイルスで全身感染を引き起こしマウスを殺した。そのウイルスは、脳など全身の臓器で増殖した。一方、マウスに対して強い病原性を示さなかったウイルス A/Hong Kong/486/97 (HK486) は、1,000 個ものウイルスを感染させてもマウスを殺さなかった。また、このウイルスはマウスの呼吸器からしか分離されなかった。次に、リバーシジェネティクス法を用いて、これらのマウスに対して強い病原性を示す HK483 ウイルスと病原性を示さない HK486 ウイルスを人工的に作り出した。それぞれのウイルスの PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸を Lys あるいは Glu に変えると、HK483 ウイルスはマウスに対して弱毒になり、ウイルスは呼吸器からしか分離されなかった。一方、HK486 ウイルスは強毒になり、ウイルスは脳を含む全身の臓器から分離された。このことから、PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸が Lys であることが、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスがマウスにおいて効率よく増殖するために重要であることが明らかとなった。



次に、2003 年から 2004 年にベトナムで、カモ、ニワトリおよび死亡したヒトから分離されたウイルス(表 1)について、その病原性をさまざまな動物モデルを用いて解析した。ベトナムでヒトから分離されたウイルスはマウスに対して強毒であり致死的な全身感染を引き起こすことが明らかとなった。特に、VN1203 ウイルスは、フェレットに対しても強毒で、全身感染をひき起こした。一方、鳥分離株は、カモに対して強毒な株 (NCVC5 および NCVD18) があつたもののマウスやフェレットに対しては、弱毒であつた。ヒトから分離された VN1194 および VN1203 ウイルスは、PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸が Lys で、それ以外のウイルスは Glu であつた。一方、ヒトから分離された VN1204 ウイルスは、PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸が Glu であり、VN1194 および VN1203 ウイルスが、マウスで全身感染を起こしているのに対して VN1204 ウイルスは呼吸器に局限していた。また、VN1203 ウイル

スはフェレットに対して強毒で全身感染を起こしたが、VN1204 ウイルスはフェレットに対して弱毒で、ウイルスは主に呼吸器から分離された。一方、カモでは、VN1204 ウイルスは全身感染を起こしてカモを殺したが、VN1203 ウイルスはカモを殺さなかった。このことから、ベトナムで分離された高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスにおいても、PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸が Lys であることは、哺乳動物で効率よく増殖するために重要な働きをしていることが明らかとなった。また、PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸が Lys である VN1203 ウイルスは、そのアミノ酸が Glu である VN1204 ウイルスよりも、Mardin-Darby canine kidney (MDCK)、human embryonic kidney 293、human primary small airway epithelial (SAEC) および human primary bronchial/tracheal epithelial (NHBE) 細胞において、33℃において効率よく増殖した。これらのウイルスの PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸をそれぞれ、Glu あるいは Lys に変えると、逆の成績が得られた。このことは、PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸は、哺乳類で効率よく増殖するために重要な働きを担うだけでなく、ウイルスが低温で増殖するためにも重要であることが示唆された。人の上部気道は～33℃の低温であることを考慮すると鳥型の Glu からヒト型の Lys に PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸が変化することは、鳥のウイルスがヒトの上部気道で効率よく増殖するのに必要な変異であることがわかった。ヒトの上部気道で増殖することにより、ウイルスは咳やくしゃみによりヒトからヒトへ効率よく伝播される。すなわち、PB2 蛋白質の 627 番目のアミノ酸の Glu から Lys の変異は、鳥インフルエンザウイルスがヒト-ヒト感染を起こすのに必要なアミノ変異であるといえる。

3. スペイン風邪ウイルス高病原性発揮の分子機構

カナダ科学研究所グループ カナダ科学研究所 高病原性病原体研究室
ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

スペイン風邪は、1918 年（大正 7 年）から翌年にかけて世界的に流行した H1N1 亜型の A 型インフルエンザウイルス感染症である。20 世紀に人類が経験した新型インフルエンザウイルスの世界的な流行は、スペイン風邪・アジア風邪・香港風邪の 3 回にわたるが、スペイン風邪では、最大の被害者数が報告されており、全世界で 2000 万～4000 万人の死者が出たといわれている。ところが、当時、インフルエンザウイルスを分離する技術は確立しておらず、流行当時のウイルスは現存しない。そのため、スペイン風邪ウイルスの病原性については全く不明なままであった。

しかし、1999 年に我々のグループがインフルエンザウイルスのリバーシジェネティクス法を開発したことにより、スペイン風邪罹患死亡患者の肺組織内から解読されたウイルスの遺伝子情報を基に、流行当時のウイルスの特性の一部・または全部を有したウイルスを再現し、病原性解析を行うことが可能となった。

マウス感染モデルにおけるスペイン風邪ウイルスの病原性

ヒト由来インフルエンザウイルス（A/Kawasaki/173/2001、A/Memphis/8/88）またはマウスに適応したヒト由来インフルエンザウイルス（A/WSN/33）を基に、その HA をスペイン風邪ウイルス由来（A/South Carolina/1/18）のものに置換えた組換えウイルスを作製した。

スペイン風邪ウイルスの HA を有する組換えウイルスを、50%マウス致死量の 10 倍量（10MLD₅₀）経鼻的に接種されたマウスは、およそ 4-8 日の経過で死に至った。マウスは呼吸器症状とともに、チアノーゼを呈し死に至ったが、死亡時には鼻出血が観察されるものも存在した。接種後 3 日目では気管支肺炎が、接種後 6 日目には全ての肺葉の肺胞壁に広くウイルス抗原が分布する肺炎病巣が観察された。接種後第 6 日目の肺胞病変は、出血病巣を伴い、ほぼ正常部位を残すことの無いほどに拡大していた。次に、感染個体内で惹起される免疫応答に注目し、感染マウスにおけるサイトカインならびにケモカインを測定した。スペイン風邪ウイルスの HA を有するウイルスを接種したマウスでは、接種後一日目において、単球遊走因子（MCP-1）、マクロファージ炎症性蛋白（MIP-1b、MIP-2、MIP-3a）、インターロイキン（IL-1b、IL-6、IL-12（p40）、IL-18）、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）過剰産生されておりマクロファージの活性化が示唆された。

これらの結果より、スペイン風邪ウイルスの HA が、本ウイルスの病原性発現に強く関与している可能性が考えられた。

サル感染モデルにおけるスペイン風邪ウイルスの病原性

スペイン風邪ウイルスの遺伝子を公表された遺伝子配列を基に合成し、リバーシジェネティクス法により 1918 年のウイルスを再構築した。ついで、マカカ属のサルを用いて、スペイン風邪ウイルスの病原性を解析した。

スペイン風邪ウイルスを接種されたサルは、接種後 24 時間以内に、元気消失、食欲減退、および呼吸器症状を示した。接種後 6 日目には一匹のサルが安楽死を余儀なくされる状態に陥り、接種後 8 日目には、残りの全てのサル（三匹）が、呼吸数の増加、血中酸素濃度の低下などの顕著な呼吸器症状を示し、安楽死を行わざるを得なくなった。一方、比較対

照として、ヒト由来インフルエンザウイルスを接種されたサルでは、非常に軽度な臨床症状が観察されたのみであった。

スペイン風邪ウイルスを接種されたサルでは、接種後 3、6、及び 8 日目の全てにおいて、上部気道・下部気道の両方から高濃度のウイルスが分離された。一方、ヒト由来インフルエンザウイルスを接種されたサルでは、接種後 3 および 6 日目に低い濃度のウイルスが、接種後 8 日目では扁桃腺からしかウイルスが分離されなかった。

病理解剖時の肉眼所見では、スペイン風邪ウイルスの接種後 6 および 8 日目のサルで、60-80%の肺領域への病巣拡大、病巣部での水様または血様液の充満が観察された。顕微鏡所見では、接種後 3 日目には、何れのサルにおいても、ある程度の肺胞障害とウイルス抗原が検出された。ヒト由来インフルエンザウイルスを接種されたサルに比べて、スペイン風邪ウイルスを接種されたサルでは、多様な肺胞構成細胞がウイルスに感染しており、肺胞腔への細胞の脱落も顕著であった。その後、経過とともに、ヒト由来インフルエンザウイルスを感染させたサルの肺では、治癒傾向がみられたが、スペイン風邪ウイルスを接種されたサルの肺胞では、肺水腫や血様液の漏出を伴った肺胞障害の進行およびウイルス抗原陽性部位の拡大が見られた(図 1)。

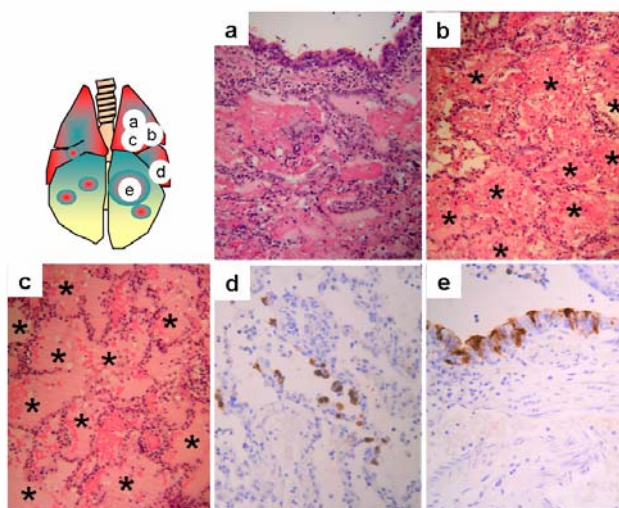


図1. スペイン風邪ウイルスを感染させたサルの肺。接種後8日目には、殆どの部位で硬化病巣が確認され、病巣部には、(a)気管支炎、(b)線維素析出(*)や炎症細胞浸潤を伴った肺胞炎、(c)肺胞水腫と血様液の漏出を伴う肺胞炎(*)が観察された。ウイルス抗原は、(d)大型の再生肺胞細胞や、(e)細気管支上皮細胞に検出された。

次に感染個体内での免疫応答を調べるため血中サイトカイン/ケモカインを測定した。スペイン風邪ウイルスを接種したサルでは、IL-6 の分泌増加が顕著であった。

更に、スペイン風邪ウイルスに対する宿主の免疫応答を調べるため、感染個体の気管支材料を用いて、マイクロアレイによる遺伝子発現を調べ、オントロジー (概念体系) 解析をおこなった。ヒト由来インフルエンザウイルスを接種されたサルの肺では、接種後 3 日目には免疫関連の遺伝子発現があり、その後、ウイルスの排除とともに細胞の代謝活性の上昇や再生に関わる遺伝子が活性化していた。一方、スペイン風邪ウイルスを接種されたサルでは、免疫関連遺伝子群の持続的な活性化が、経過観察中、継続する傾向が見られた。

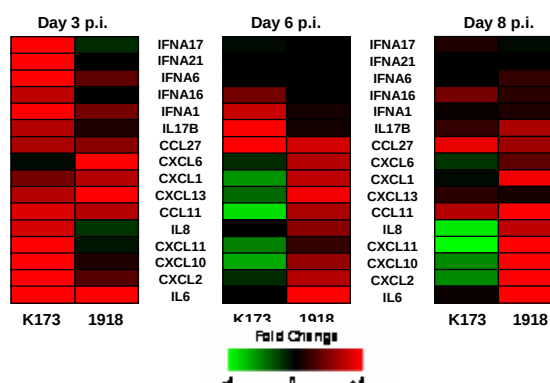


図2. ヒト由来インフルエンザウイルス(K173)または1918年のスペイン風邪ウイルスを感染させたサルの気管支組織のサイトカイン/ケモカイン関連遺伝子のマイクロアレイ解析結果。赤: 発現上昇。緑: 発現抑制。

免疫反応に関連した遺伝子発現の更なる解析により、スペイン風邪ウイルス接種サルでは、(1) IL-8 や CXCL11 を含むいくつかのサイトカイン遺伝子の発現の遅延がある、(2) 好中球の活性や浸潤に関係する CXCL6 や CXCL1 等のいくつかのケモカインが強く発現している、(3) ヒト由来のインフルエンザウイルス感染で見られる、タイプ I 型のインターフェロンとその関連遺伝子 (タイプ I 型インターフェロン刺激遺伝子) の発現上昇が見られない、(4) 抗ウイルス活性の発揮に関与することが知られている DDX58 (syn. RIG-I) や IFIH1 (syn. MDA5) の発現が低い、などの特徴が観察された (図 2)。これらの所見は、1918 年のスペイン風邪ウイルスの感染による予後決定因子のひとつとして、感染時における非定型的な自然免疫反応が関与している可能性を示唆している。

以上の研究から、1918 年当時流行したスペイン風邪ウイルスの霊長類における病原性が明らかとなり、その病理発生機序を解明する手懸りを得ることができた。特に、今回解明された病理発生機序は、現在問題となっている高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) の感染予後因子にも共通する可能性がある。

4. 人における鳥型・人型レセプターの分布

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

インフルエンザウイルスのレセプターは、シアル酸を末端に持つ糖鎖で、ウイルス表面の糖蛋白質・ヘマグルチニン (HA) によって認識される。HA のレセプター認識はウイルスが分離された宿主動物によって異なり、鳥由来ウイルスはシアル酸がガラクトースに $\alpha 2, 3$ 結合したもの (SA $\alpha 2, 3$ Gal) を、ヒト由来ウイルスは主として SA $\alpha 2, 6$ Gal を認識する。水禽のウイルスが増殖するカモの腸管上皮細胞の細胞表面には SA $\alpha 2, 3$ Gal が豊富に存在し、反対に、ヒトのウイルスが増殖するヒトの気管上皮細胞表面には SA $\alpha 2, 6$ Gal が多く存在することが報告されていた。つまり、ウイルスのレセプター認識の違いは、それぞれの宿主動物が持つ粘膜上皮細胞上のシアル酸に対応した特性であり、鳥由来ウイルスは容易にヒトに感染しないと考えられてきた。ところが、1997 年以来、高病原性鳥インフルエンザウイルスが鳥からヒトに直接感染し、150 名近くの人がこのウイルスに感染して死亡している。我々は、この矛盾を解明するためにヒトの呼吸器におけるインフルエンザウイルスのレセプター分布を解析した。

毎年冬季に人の間で流行を繰り返すインフルエンザが上部気道感染を主体とするのに対し、高病原性鳥インフルエンザウイルス感染者では、むしろ下部呼吸器症状・消化器症状が強く見られるのが特徴である。そこで、シアリルオリゴ糖に特異的なレクチンを用いて人の呼吸器におけるウイルスレセプターの検索を行った。

検索の結果、人の呼吸器の深部には *Maackia amurensis* レクチン (MAL II, Vector Laboratories) が結合する SA $\alpha 2, 3$ Gal、すなわち鳥ウイルスのレセプターが存在することがわかった (図 1)。そして上部気道には、線毛を有する鼻粘膜細胞の一部を除いて、*Sambucus nigra* (SNA, Vector Laboratories) が認識する SA $\alpha 2, 6$ Gal、すなわちヒトウイルスのレセプターが主として存在していた。このヒト呼吸器体内におけるインフルエンザウイルスレセプターの分布は、H5N1 ウイルスに感染した患者におけるウイルス増殖とよく一致し、H5N1 ウイルス感染症の病態、すなわち重度の下部呼吸器疾患もよく説明している。この人の呼吸器におけるヒトウイルスと鳥ウイルスのレセプター分布の相違は、鳥由来インフルエンザウイルスが人から人へ伝播しにくい原因の一つにもなっていると考えられる。つまり、H5N1 ウイルスが人から人へ効率よく伝播するためには、ウイルスの HA がヒトの上部気道に多く存在するヒトウイルスのレセプターを認識できるように変異する必要があるのだろう。

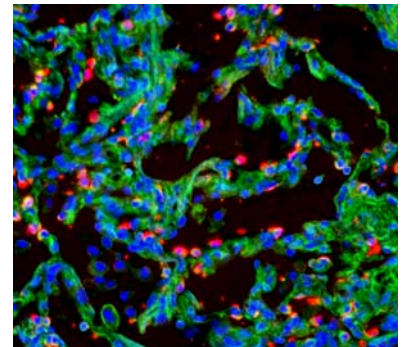


図1. 正常な肺胞組織におけるインフルエンザウイルスレセプター(シアル糖鎖)の発現分布。正常な肺胞組織には、MALIIレクチン結合性のシアル糖鎖・SA $\alpha 2, 3$ Gal (赤色)を細胞表面に持つ細胞が散在する。

ヒトの体内における鳥インフルエンザウイルスのレセプター分布の解明は、本ウイルスによる下部呼吸器の感染防御・治療対策の確立に重要な知見である。また、感染者の体内で鳥インフルエンザウイルスがヒトへの適応を進める過程を理解する上でも重要である。

5. H5N1 インフルエンザウイルスのヘマグルチニンがヒト型レセプターを認識するのに必要なアミノ酸変異

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

2003 年以降、H5N1 高病原性鳥インフルエンザがアジアを中心に流行し、家禽のみならずヒトにも感染している。2005 年～2006 年にかけては、中東、アフリカ、欧州にまで拡散し、それに伴い、ヒトへの感染は年々増加している。幸い世界的流行（パンデミック）は起こっていないが、ヒトへの感染事例が増加すると、それだけパンデミックを起す新型インフルエンザウイルス出現の可能性が高まる。なぜなら、ヒトでの感染を繰り返すうちに、ヒトで効率よく増殖するのに必要なアミノ酸変異を持つウイルスが出現するためである。鳥のインフルエンザウイルスがパンデミックを起こすようなウイルスに変化する過程において、鳥型からヒト型へのレセプター特異性の変化が重要と考えられている。インフルエンザウイルスは、ウイルス膜表面の糖タンパク質のひとつであるヘマグルチニン(HA)が、細胞表面にあるレセプター分子（シアル酸）と結合して感染が始まるが、鳥由来のインフルエンザウイルスは、シアル酸がガラクトースに $\alpha 2, 3$ 結合しているもの(SA $\alpha 2, 3$ Gal)を主に認識するのに対し、ヒト由来ウイルスは、 $\alpha 2, 6$ 結合するシアル酸(SA $\alpha 2, 6$ Gal)を主に認識する。このレセプター特異性の違いが、宿主域を大きく左右することが知られている。それ故、H5N1 鳥インフルエンザウイルスが、どのような変異を獲得したときにヒト型レセプターを認識するようになるのか、その分子メカニズムを解明することは重要である。

そこで、その分子メカニズムの解明を目的とし、2004 年から 2005 年にかけてタイやベトナムでヒトから分離された H5N1 インフルエンザウイルス、および、インフルエンザのゲノムに関するデータベースに登録された塩基配列を基にプラスミドを作製し、リバーシジェネティクス法（プラスミドからウイルスを人工的に作製する方法）により作製したウイルス、合計 21 株のヒト由来 H5N1 インフルエンザウイルスのレセプター特異性の解析を行った。

同時に解析した鳥分離ウイルス 5 株は、鳥型のレセプターのみを認識したのに対し、ヒト由来ウイルスは、数株が鳥型のレセプターのみならずヒト型のレセプター(SA $\alpha 2, 6$ Gal)も認識した。中でも、3 株が顕著な SA $\alpha 2, 6$ Gal への親和性を示し(図 1)、2 株については、Q192R、G139R、N182K が、大きく関与していることがわかった(図 2)。残りの 1 株については、単独で顕著にヒト型レセプターの認識に関与する変異はなく、複数の変異の集積により SA $\alpha 2, 6$ Gal と結合できるようになっていることがわかった。

現在、H5N1 インフルエンザウイルスは、系統学的に 3 つの分岐群(clade)に分類されている。解析を行った上述のウイルスは、clade1 に属しており、2005 年～2006 年にかけて中国や、インドネシアで流行した株や、中東やアフリカ、欧州にまで拡散した株は clade2 に属する。そこで、上述の変異(Q192R、N182K、G139R、N193K)が、clade2 に属する株で起こったときに同様に SA $\alpha 2, 6$ Gal を認識するように変化するか否かを解析を行ったところ、Q192R、N193K の変異は、SA $\alpha 2, 6$ Gal 結合を上昇させたが、N182K、G139R は、SA $\alpha 2, 6$ Gal 結合の上昇には影響を与えなかった(図 3)。しかしながら、N182K の変異は両 clade のウイルス共に、SA $\alpha 2, 3$ Gal への親和性を低下させた。なお、N182K または Q192R を有するウイルスが、2006 年にアゼルバイジャンおよびイラクにてヒトから分離されている。

更に、レセプター結合における上記変異の関与について *in silico* 構造解析を行った結果、N182K、Q192R に関しては、水素結合によりヒト型レセプターとの親和性を高めている可能性が示唆された(図 4)。

以上より、182 番目や 192 番目のアミノ酸変異が、レセプター認識のヒト型へのシフト

に大きく関与していることが示された。この知見は、パンデミックウイルス出現に対する事前策を講じる際、分離株のリスク評価を行うための分子マーカーとなると考えられ、今後、新型コロナウイルスの出現を監視する上で重要である。

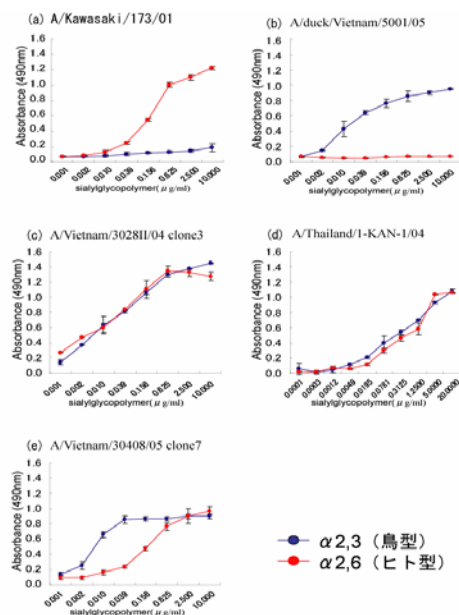


図1. H5N1インフルエンザウイルスのレセプター特異性の解析
(a) ヒト分離ウイルス (H1N1)、(b) 鳥分離ウイルス (H5N1)、(c) ~ (e) ヒト由来ウイルス (H5N1)
(a) および (b) のウイルスは、それぞれヒト型および鳥型のレセプターのみを主に認識しているのに対し、(c) ~ (e) の3株は、鳥型のみならずヒト型レセプターも認識した。

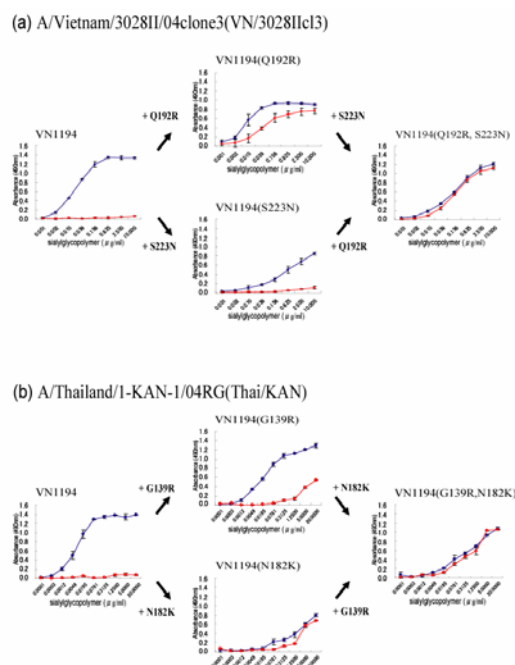


図2. ヒト型レセプターの認識に重要な変異の解析
ヒト型レセプターを認識した上記2株では、それぞれ、G139R、N182KおよびQ192Rがヒト型レセプター認識に重要であることが示された。

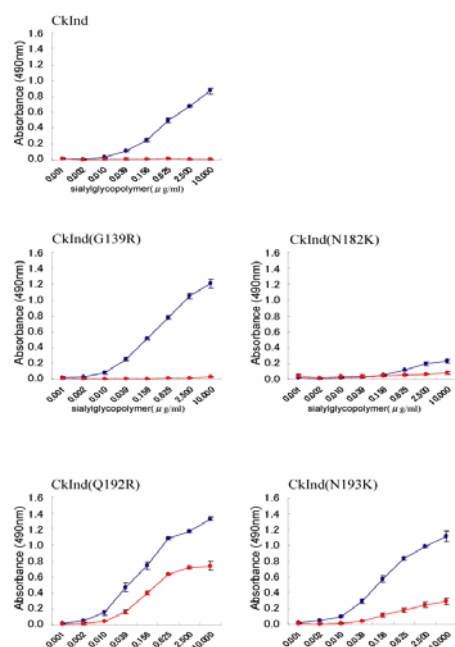


図3. clade2に属するCk/Indonesia/N1/05 (CkInd) に、clade1にて同定したヒト型レセプター認識に關する4つの変異を導入したウイルスのレセプター特異性変化の解析
4つのアミノ酸変異のうち、Q192RとN193Kのみが、ヒト型レセプター認識に關した。ただし、N182Kは、鳥型レセプターへの親和性を減少させた。

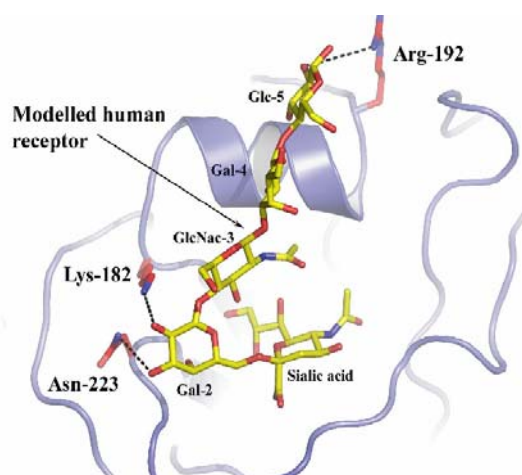


図4. ヒト型レセプターとH5N1ウイルス (clade1) HAとのin silico構造解析
182Kと2番目のガラクトース、ならびに、192Rと5番目のグルコースが水素結合を形成することにより、親和性が上がることが示唆された。

6. 次世代インフルエンザワクチンの開発 - A/B キメラワクチンの可能性

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

インフルエンザは毎年冬になると流行し、幼児や高齢者を中心に多数の犠牲者を出す。予防策として、不活化コンポーネントワクチン（HA ワクチン）が用いられているが、ウイルスの侵入門戸（上部気道）に粘膜免疫を誘導できないため、症状の重篤化を予防するのが限界である。そのため、感染予防が期待できる鼻腔噴霧型の弱毒生ワクチン FluMist®がアメリカで開発され、使用されている。これは、A 型 2 種類（H1N1 と H3N2）と B 型の弱毒ウイルスを混合して接種される。しかし、混合にともない生じるワクチンウイルス間での干渉作用（特に A 型ウイルスによる B 型ウイルスの増殖抑制）によるワクチン効果の減少が指摘される。この欠点を克服するための次世代の弱毒生ワクチンとして、我々は 3 種類の HA 蛋白質（H1、H3 および B）を同時に 1 つの A 型マスターウイルス粒子に組み込んだワクチンウイルスの可能性を考えた。それにより、体内での抗原発現量に優れ、ウイルス間干渉作用のない理想的な弱毒生ワクチンが期待できる。そこで、我々が明らかにしたウイルスゲノム RNA のパッケージングメカニズムを基に、A/B キメラウイルス（つまり B 型 HA を発現する A 型ウイルス）の作製を試みた。

B 型の HA 分節そのままでは、A 型ウイルスにパッケージングされない。そこで、A 型の HA 分節の非翻訳領域の間に A/B キメラ HA 遺伝子を配したプラスミドを作製した（図）。このキメラ HA 遺伝子は、N 末のシグナル領域および C 末の細胞膜貫通以下の領域をコードする A 型 HA 由来の配列と、抗原部位を含む細胞外領域をコードする B 型 HA 由来の配列により構成される。したがって、この中には A 型 HA 分節の翻訳領域にあるパッケージングシグナルが含まれると同時に、そのキメラ HA 蛋白質に含まれる A 型由来の細胞質内ドメインを介してウイルス内部の M1 蛋白質との相互作用が維持されることとなる。一方、B 型 NA 分節（full-length）をもつキメラ NA 分節も同時に作製した。これらのキメラ HA 分節および NA 分節を用いて、リバーシ・ジェネティクスを行ったところ、非常に効率良く感染性ウイルスが作出できた。各ウイルス蛋白質の発現を確認した後（図）、この A/B ウイルスをマウスに接種したところ、B 型 HA に対する中和抗体応答が誘導され、B 型野生株の攻撃を完全に防御した。

この成果は、今後、HA 多重発現ワクチンウイルスの構築の基礎となる。また、今回作製したウイルスと同様の A/B キメラウイルスは、他の A 型ワクチンウイルスと干渉しない B 型ワクチンウイルスとして応用可能である。さらに、この方法により、新型ウイルス（H5 あるいは H7 ウイルスなど）を想定としたパンデミックワクチンも作製可能である。

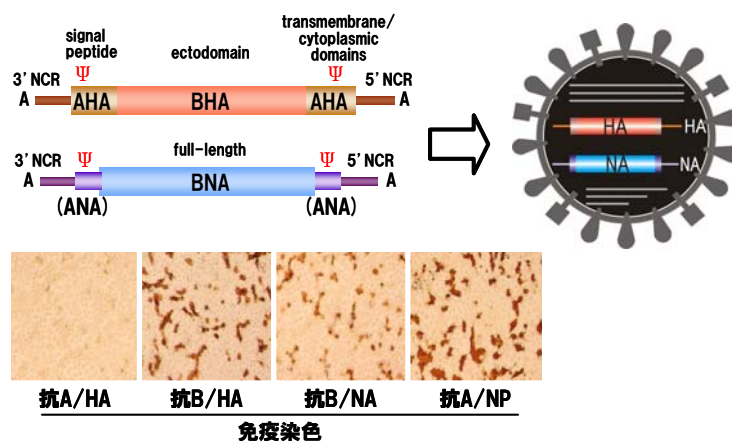


図. リバーシジェネティクスによる A/B キメラウイルスの作製

パッケージングシグナル（Ψ）をもつ HA、NA キメラ分節を保有する組み換え（A/B キメラ）ウイルスを作製した。ウイルス感染細胞を各抗体で免疫染色した。

7. H5N1 ワクチンシードウイルス株の作出

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

H5N1 高病原性鳥インフルエンザが、ヨーロッパ、アフリカに拡大し、ヒトの感染・死亡数が増えている。ヒトは H5 ウイルスに対する抗体を持たないため、新たなパンデミックの危険性が危惧されている。パンデミックを防ぐ強力な武器たる抗インフルエンザ薬に対する耐性ウイルスも分離されている。ワクチンは疾病の予防において最大の武器である。そこで、ワクチンとして用いるための H5N1 弱毒改変型組換えウイルスの作製を行った。

流行株と抗原性が同じで、鶏卵でよく増殖する弱毒ウイルスがワクチンシードウイルスの理想である。このようなウイルスはリバーシジェネティクス法によって作製できる。まず、クローニングした高病原性ウイルスの HA 遺伝子の病原性に関与する開裂部位コード領域を低病原性タイプに改変する (RERRRKKR から RETR に変更)。NA 遺伝子も流行株からクローニングする。HA、NA 以外の 6 つの遺伝子は、発育鶏卵高増殖性である PR8 株から用意する (PR8 株をドナーウイルスと呼ぶ)。これらを用いて PR8/H5N1 6:2 (HA と NA の 2 つの遺伝子が流行株由来で残りの 6 つの遺伝子がドナー PR8 ウイルス由来) 遺伝子交雑ウイルス (リアソータント) を作製する (図 1)。しかしながら、このような方法を用いて英国で作成され現在臨床試験に用いられている NIBRG-14 株は、PR8 株由来の内部遺伝子を保有するにも拘らず、鶏卵での増殖性が野生型 PR8 株の 1/10 である。そこで、より効率よく増殖する新しいワクチンシード候補株の作出法を開発した。

まずリバーシジェネティクスにより PR8 株 (高増殖性) と WSN 株 (低増殖性) との間で遺伝子交雑体を作製し、それらの鶏卵での増殖性から、PR8 株の高増殖性決定因子を同定した。次に、2004 年 H5N1 ヒト分離株 VN1203 の弱毒改変型 HA 分節と、他の幾つかの株 (HK213、HK486、Kanagawa、WSN、PR8) 由来の NA (全て N1 亜型) 分節あるいは、stalk 領域を改変した変異 NA (VN1203 由来)、そして残りの遺伝子が PR8 株という遺伝子交雑体 (図 2) を Vero 細胞で作製し、それらの鶏卵での増殖性を比較した。

その結果、PR8 株の鶏卵高増殖性はウイルス RNA ポリメラーゼ PB1 蛋白質の機能と膜糖蛋白質 (HA-NA バランス) により決定されることが明らかになった。また作製した NA 改変型組換えウイルスのうち、PR8 株由来の NA をもつ組換えウイルスがそれ以外のウイルスよりも 3～4 倍高い増殖性を示した。

以上の成績から、7:1 リアソータント (HA 分節のみ流行株由来) が、従来型の 6:2 リアソータント (HA および NA 分節の両方が流行株由来) より、鶏卵増殖性に優れることが明らかとなった。前者の H5N1 ワクチンシード候補株としての応用は、後者に比べ NA 蛋白質に対する特異的防御反応が減少する可能性はあるが、組換えウイルス作製過程の簡略化、時間の節減、また発育鶏卵供給量減少時には、有用であると考えられる。

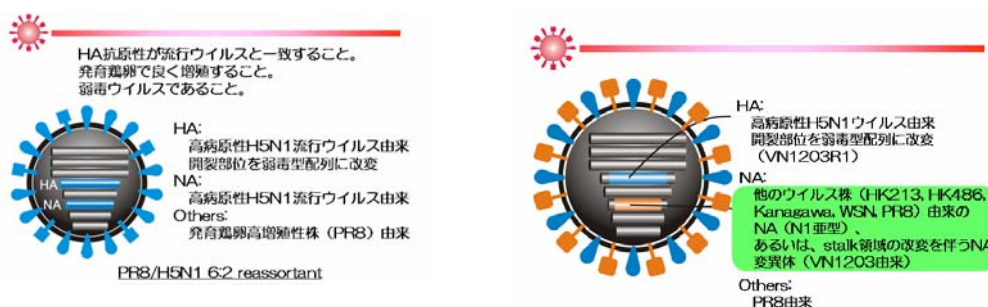


図 1. H5N1 ワクチンシードウイルス候補株 図 2. NA 改変型 H5N1 ワクチンシード候補株

2004 年以降に分離された H5N1 ウイルスは、分子系統樹解析により二つのグループに分類される (clade 1 と clade 2) (図 3)。Clade 1 はベトナム、タイなどで分離されたウイルス (インドシナグループ) で、clade 2 はその他の地域 (例えば中国、インドネシア、日本、トルコ、ナイジェリアなど) で分離されたウイルスにより構成される。H5N1 ウイルスの遺伝学的変化は、その抗原性の多様性につながる。現在 clade 1 に属するリファレンスウイルスを用いた試作ワクチンの臨床試験が行われているが、実際に流行範囲が拡大しているのは clade 2 に属するウイルスである。また、同じ clade でも株によっては抗原性かなりの違いがある。不活化ワクチンの有効性は、ワクチン株と流行株間の抗原性がどの程度合致しているかに左右される。そこで、抗原性の変化に対応できるワクチン戦略として、clade 1 から 3 株 (A/Vietnam/IMS3030/2004、A/Vietnam/IMS30262/3/2004、A/Vietnam/IMS30259/2004)、clade 2 から 2 株 (A/Indonesia/7/2005、A/Hanoi/30850/M2/2005) を選択し (図 3、赤字)、開裂部位コード領域を低病原性タイプに改変した PR8/H5N1 6:2 リアソータント・ワクチンシード候補株を作出した。これら 5 つのワクチンシード候補株を不活化し、マウスに免疫したところ、全てのマウスで抗体価の上昇を確認した。今後、このワクチンシード候補株のうち、どの株が最も広範囲の H5N1 ウイルスに有効であるのかを解析すると共に、マウスでの感染防御試験も行っていく予定である。

H5N1 鳥インフルエンザウイルスはアフリカにも拡大した。検査体制が整っておらず、医療レベルの低い諸国への伝播は憂慮すべきである。感染経路は渡り鳥であるのか、人為的なものであるのかは分らないが、今後 H5N1 ウイルスフリーのアメリカ大陸にもウイルスが侵入する可能性は高く、日本にも再びやってくるかもしれない。本研究で得られた成果は、パンデミック発生時の迅速な新型インフルエンザ対策に有効なものとなる。

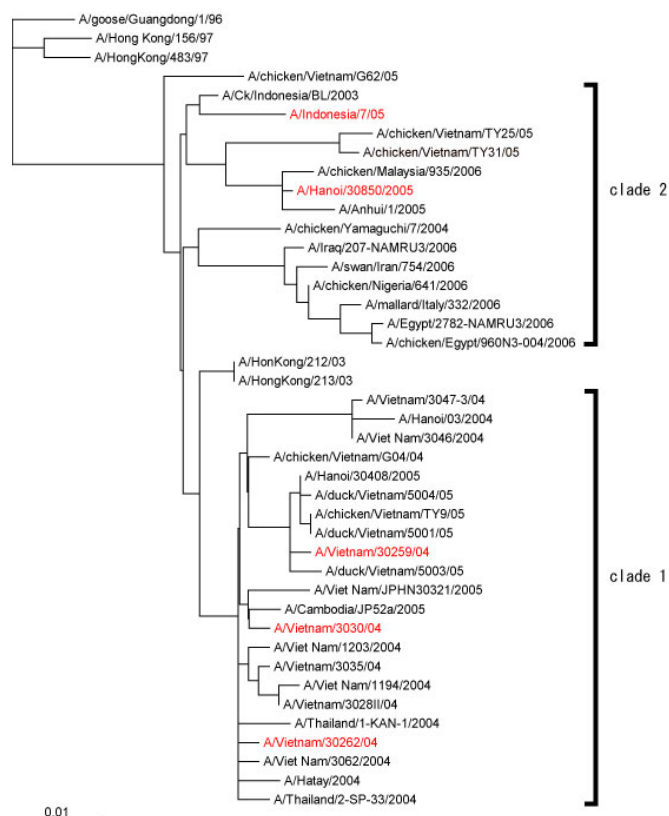


図 3 : H5N1 ウイルスの系統樹

8. インフルエンザウイルスを基にした多価生ワクチンの開発

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

感染症の予防には病原体の進入門戸における防御が重要であり、粘膜面を進入門戸とする多くの病原体に対しては粘膜免疫を誘導するワクチンが効果的である。インフルエンザ及びパラインフルエンザはヒトにおける重要なウイルス性呼吸器疾患であるが、前者に対しては現行の不活化ワクチンよりも弱毒生ワクチンが感染防御に有効である。一方、後者に対しては、不活化ワクチンは症状を重篤化する作用があるので、そのような副作用を誘導しない弱毒生ワクチンの開発が望まれている。そこでインフルエンザウイルスをベクターとしてインフルエンザとパラインフルエンザの両方に対して同時に効果を示す多価生ワクチンの開発を試みた。

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ともに、感染防御に重要な抗原は表面糖蛋白質(前者ではHAとNA、後者ではFとHN)である。本研究では、リバーシ・ジェネティクス法を用いて、インフルエンザウイルスのNA(感染防御抗原としてはHAに劣る)をパラインフルエンザウイルスのHNで置換し、感染細胞においてインフルエンザウイルスのHAとパラインフルエンザウイルスのHNの両抗原を安定的に発現する組み換えウイルスを作出した。組み換えウイルスの性状を調べたところ、この組み換えウイルスは発育鶏卵において親株と同様に効率よく増殖し、感染細胞においてHAとHNの両抗原を発現した(図1)。また、発育鶏卵で10代継代を重ねても増殖効率に変化は見られず、HAとHNの両抗原の発現も安定していた。しかもマウスでは、親株が致死性的なのに対して、組み換えウイルスでは弱毒化していた。さらに、組み換えウイルスを経鼻接種したマウスでは、両ウイルスに対して有意な抗体価の上昇が見られた。これらのマウスを、致死量のインフルエンザあるいはパラインフルエンザウイルスで攻撃したところ、いずれのウイルスに対しても100%の生存率を示した(表1)。これらの結果はこの組み換えウイルスが2つの異なるウイルス感染症に対して有効な弱毒生ワクチンであることを示している。

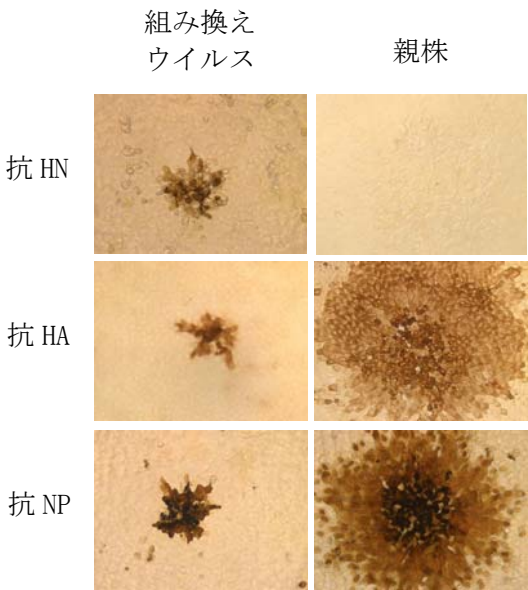


図1 組み換えウイルスは感染細胞においてHNとHAの両抗原を発現する。

以上の結果は、インフルエンザウイルスの多価生ワクチンベクターとしての可能性を世界に先駆けて証明したものである。多くのウイルス感染症においては、自然感染に倣った生ワクチンが効果的である。

また、ワクチン投与に関する時間的・経済的負担を軽くするため、一度に複数の感染症に対して免疫を付与する混合(多価)ワクチンの需要は高い。しかし、MMR(三種混合ワクチン；はしか、風疹、おたふく風邪)以外の生ワクチンの投与では、ウイルス同士の緩衝作用が懸

表1. 組み換えワクチンによるマウスの防御

ワクチン	攻撃ウイルス(生存数/試験数)	
	パラインフルエンザウイルス	インフルエンザウイルス
組み換えウイルス	7/7	7/7
PBS	0/6	0/6

念されるため、1 ヶ月以上の間隔をあけて単品投与することが基本となっている。米国では、弱毒 A 型インフルエンザウイルス 2 株（H1N1, H3N2）と弱毒 B 型インフルエンザウイルスを混合したインフルエンザ生ワクチンが、すでに認可されている。これら 3 株の NA をヒトパラインフルエンザタイプ 1, 3 の HN ならびに Respiratory Syncytial virus の G または F に置き換えることで呼吸器感染症混合多価ワクチンとすることも可能であろう。

9. 小児におけるアマンタジン耐性ウイルスの出現

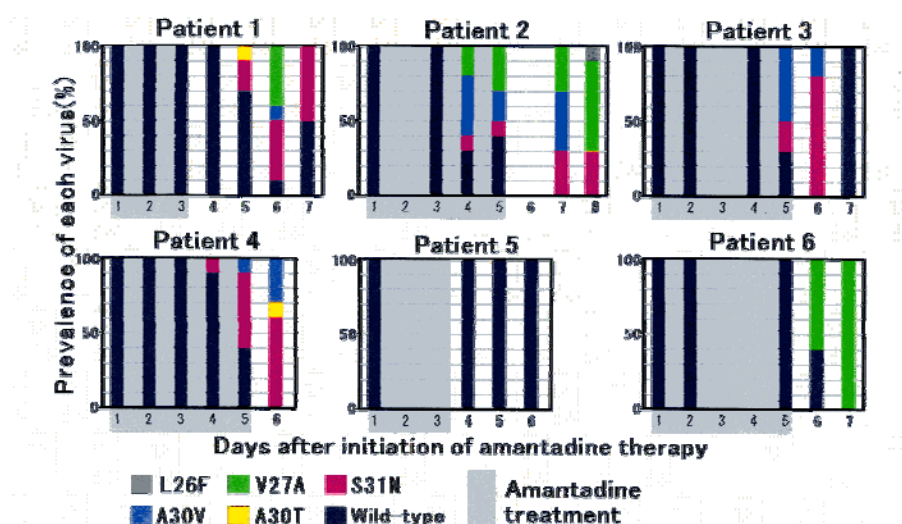
ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

抗インフルエンザ薬アマンタジンは、A 型インフルエンザウイルスの M2 蛋白質のイオンチャンネル活性を阻害することにより、ウイルスの増殖を抑制する。これまで、その耐性ウイルスは、治療患者の約 30%に出現するとされていたが、*in vitro* で容易に本剤耐性ウイルスが出現することから、これよりも高い効率で耐性ウイルスが出現している可能性が考えられた。

本研究では、アマンタジン治療患者より分離されたウイルスから RNA を抽出し RT-PCR 法により増幅した M 遺伝子を、プラスミドにクローニングした後に塩基配列を決定した。この方法により、耐性ウイルスと感受性ウイルスの相対比の同定とともに少数混在する耐性ウイルスの検出も可能となった。また、耐性ウイルスの出現パターンを明らかにするために同一患者で経時的にサンプルを採取し解析を行った。

その結果、治療前に薬剤感受性を示した 15 例のうち、12 例(80%)で治療開始後に耐性ウイルスの出現が認められた。2 例の患者では、治療前から薬剤耐性を示したが、アマンタジン治療患者との接触歴は不明であった。現在まで、臨床検体での耐性変異は 5 種類報告されているが、そのすべてが今回の研究で認められており多くの患者では複数の耐性ウイルスが同時に出現、共存し続けていることが明らかになった。経時的にサンプルの解析を行った 6 人の患者のうち、2 人でアマンタジン治療開始後に耐性ウイルスが一度優勢になった後、治療を終了すると、再び感受性ウイルスが優勢になる例が認められた。この結果は、アマンタジン非存在下では、アマンタジン感受性ウイルスの方が耐性ウイルスよりも、よく増殖する可能性を示唆している (図)。

今回の成績から、アマンタジン耐性ウイルスが従来の報告より明らかに高頻度に出現すること、また、同一患者で複数の耐性ウイルス出現が頻繁に起こっていることが明らかになった。



図。アマンタジン治療患者における耐性ウイルスの出現。示した 6 名の患者のうち 5 名において耐性ウイルスが認められ、そのうち 4 名では 2 種類以上の耐性ウイルスが確認された。

10. 小児における H3N2 オセルタミビル耐性 A 型インフルエンザウイルス

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

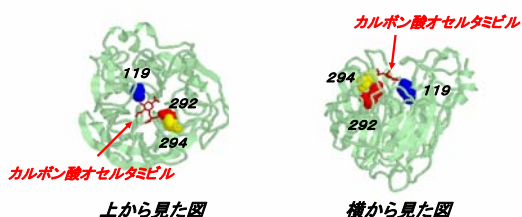
オセルタミビルは、インフルエンザウイルスに有効な薬剤で、ウイルスのノイラミニダーゼ活性を阻害する。オセルタミビルは、アマンタジンやリマンタジンよりも耐性ウイルスの出現頻度が低いとされているが、オセルタミビル投与患者における本剤耐性ウイルスの出現については限られた情報しかなかった。本研究では、インフルエンザ治療を受けた小児を対象としてオセルタミビル耐性株の出現を検討した。

小児 50 名からオセルタミビル投与前後に検体を採取し、H3N2 亜型の A 型インフルエンザウイルスを分離し、解析した。分離したウイルス遺伝子のノイラミニダーゼおよびヘマグルチニンの塩基配列を決定し、ノイラミニダーゼに変異の認められたウイルスについて、オセルタミビルの活性体であるカルボン酸オセルタミビルに対する感受性を調べた。

その結果、オセルタミビル投与を受けた 9 名 (18%) の患者から分離されたウイルスのノイラミニダーゼに変異が検出された。そのうち 6 名では、292 番目のアミノ酸 (Arg292Lys) に、2 名では 119 番目のアミノ酸 (Glu119Val) に変異が認められた。これらはいずれもノイラミニダーゼ阻害薬に対する耐性を付与することが既知の変異である。1 名では、別の変異 (Asn294Ser) が認められた。カルボン酸オセルタミビルに対する感受性を調べたところ、Arg292Lys、Glu119Val、Asn294Ser の変異 (図 1) を有するノイラミニダーゼは、薬剤投与前のノイラミニダーゼと比較して、それぞれ約 $10^4 \sim 10^5$ 倍、500 倍、300 倍耐性になっていた (図 2)。オセルタミビル耐性ウイルスは、治療 4 日目の検体にはじめて検出され、それ以降の検体からも引き続き検出された。薬剤耐性ウイルスが出現しなかった患者でも、治療開始後 5 日目でも 1ml あたり 10^3 感染価以上のウイルスが検出された例があった。

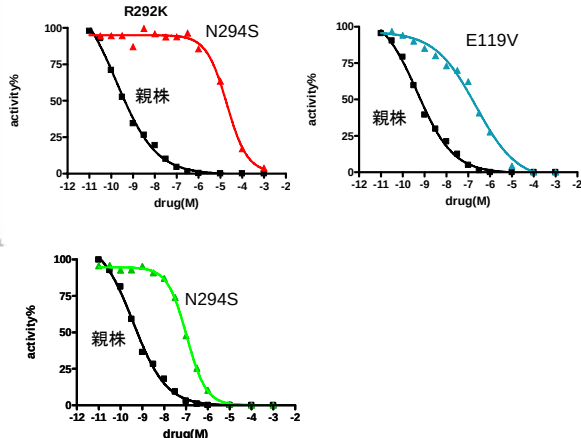
以上、小児インフルエンザ患者におけるオセルタミビル耐性ウイルスの出現頻度は、これまで知られているよりもはるかに高いことがわかった。また、オセルタミビル投与開始後 5 日目であっても、小児は相当量のウイルスを排出していることが明らかとなった。

図1 NAに起きたアミノ酸変異の場所



- 耐性ウイルスに認められた変異は、薬剤が相互作用するアミノ酸、あるいはその近傍に認められた。

図2 各種変異株におけるカルボン酸オセルタミビルに対する感受性



11. オセルタミビル耐性 H5N1 インフルエンザウイルスの出現

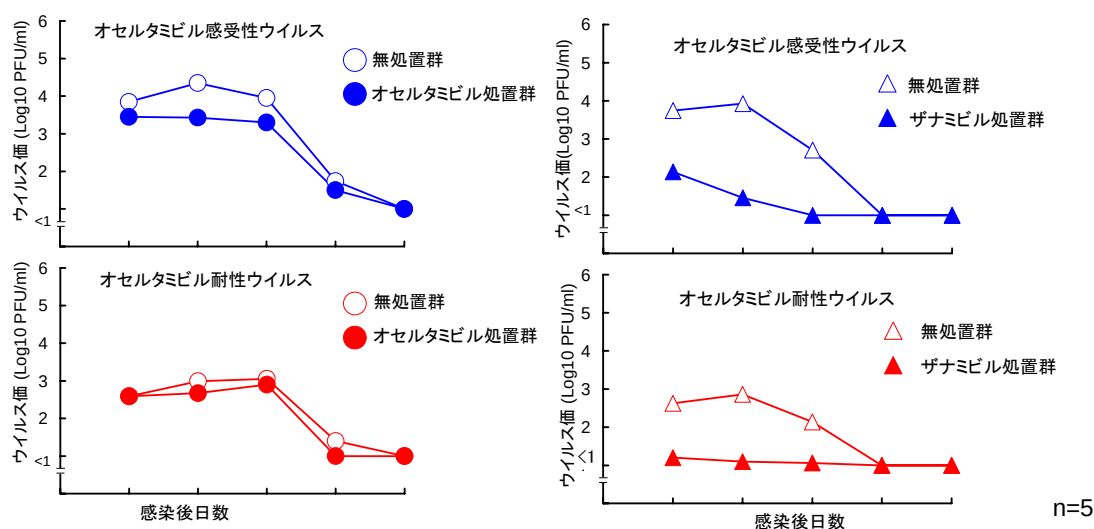
ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

アジアに始まり、ヨーロッパそしてアフリカに伝播した H5N1 鳥インフルエンザにより多くの人が死亡しており、世界的なインフルエンザの流行（パンデミック）が危惧されている。H5N1 ウイルスによるパンデミックが生じた場合、抗ウイルス薬の多用が予想される。現在流行している H5N1 インフルエンザウイルスの一部は、既に M2 阻害剤(アマンタジンなど)に対し耐性を獲得している。従って、ノイラミニダーゼ阻害剤であるザナミビルあるいはオセルタミビルに頼るしかない。薬剤の使用には、常に耐性の問題がつきまとうが、H5N1 ウイルスのノイラミニダーゼ阻害剤に対する耐性ウイルスの出現に関しては全くわかっていなかった。

本研究では、H5N1 インフルエンザに感染した兄を看病している間に、H5N1 ウイルスに感染した 14 歳のベトナムの少女から分離されたウイルスの性状を解析した。少女は予防的に 3 日間オセルタミビルを治療量の半量服用していた。ノイラミニダーゼ遺伝子の塩基配列解析から、274 番目のアミノ酸に変異を検出した。この変異はオセルタミビル耐性を付与することがわかっている。検出された変異ウイルスおよびその親株（オセルタミビル感受性ウイルス）を用いて、フェレットでの感染実験を行った。オセルタミビル耐性ウイルスは親株と比較しその増殖性は低下していた。また、ザナミビルはオセルタミビル感受性ウイルスのみならずオセルタミビル耐性ウイルスに対しても有効であった。このフェレットでの成績は、*in vitro* のノイラミニダーゼ阻害試験の結果と一致していた。

以上の結果から、H5N1 ウイルスもオセルタミビル耐性になることが明らかとなった。本ウイルスに対して人々は感染したことがないため、ウイルス排除がままならず、耐性ウイルスが出現しやすいと考えられる。H5N1 ウイルスのみならず他の鳥インフルエンザウイルスに対しても誰もが初感染であるため、ウイルスが体内で増殖しやすく薬剤耐性ウイルスが容易に出現することが予想される。本研究の成績は、抗インフルエンザ薬は特定のものに限定せず、幅広く備蓄する必要があることを示している。

図 フェレットにおけるオセルタミビル耐性および感受性ウイルスの NA 阻害剤に対する感受性



12. NA 阻害薬耐性 B 型インフルエンザウイルスの伝播

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

B 型インフルエンザウイルスは、A 型インフルエンザウイルスと同様に毎年のように流行する。流行の規模は A 型より小さいことが多いが、それでもやはり世界中で人口の死亡率を押し上げる一因となっている。ノイラミニダーゼ (NA) 阻害薬は B 型インフルエンザウイルスに対しても効力を発揮する。M2 蛋白質を持たない B 型インフルエンザウイルスに対して M2 蛋白質阻害薬 (アマンタジン) は無効であり、NA 阻害薬が現在利用できる唯一の治療薬である。しかし、B 型インフルエンザウイルスに対する NA 阻害薬の効果や耐性出現率に関する知見はきわめて限られている。ことに NA 阻害薬耐性 B 型インフルエンザウイルスは、世界でわずか 2 例が報告されているに過ぎない。そこで、B 型インフルエンザに罹患した小児を対象に NA 阻害薬 (オセルタミビル) 投与に伴う耐性ウイルスの出現率を検討し、さらに市中で分離される B 型インフルエンザウイルスの NA 阻害薬 (オセルタミビルおよびザナミビル) に対する感受性を調査することにより、その NA 阻害薬に対する感受性と NA 阻害薬耐性インフルエンザウイルスの特性を明らかにすることを試みた。

2004-05 年に B 型インフルエンザと診断されオセルタミビルの投与を受けた小児 74 人 (平均 3.9 歳) の治療前・後の鼻咽頭ぬぐい液からウイルスを分離した。分離感度をより高めるため、Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞にヒトインフルエンザウイルスが主として結合するレセプター (シアル酸がガラクトースに $\alpha 2, 6$ 結合した糖鎖) を過剰発現させた細胞を作成し、ウイルス分離に用いた。NA 阻害薬に対する感受性はシアリダーゼ阻害法による 50% 抑制濃度 (IC_{50}) として求め、治療前後でのウイルスの感受性の変化を調べた。その結果、74 人中 1 名 (1.4%) でオセルタミビル投与後に NA 阻害薬耐性ウイルスが検出された。その耐性ウイルスは野生株と比較してオセルタミビルに対して 4 倍、ザナミビルに対して 7 倍感受性を減じており、薬剤の作用点である NA 蛋白質の活性部位に 1 つのアミノ酸変異 (Gly402Ser) がみられた。このことは、B 型インフルエンザウイルスもまた、NA 阻害薬の投与に伴い耐性化することを示すものである。

次に、422 名 (うち 66 名は成人) の未治療患者から得られた B 型インフルエンザウイルスの NA 阻害薬に対する IC_{50} を求めた。B 型インフルエンザウイルスのオセルタミビルおよびザナミビルに対する IC_{50} の平均値 (標準偏差) はそれぞれ 74.9 (41.5) nmol/L および 12.2 (11.0) nmol/L であった (図 1)。この値は A 型インフルエンザウイルス (H3N2) と比較して、それぞれ 150 倍および 8 倍高く、B 型インフルエンザウイルスはそもそも NA 阻害薬に対して感受性が低い可能性が示唆された。図 1 に示すように、422 例の未治療患者から得られたウイルスの中に著しく NA 阻害薬に低感受性である (すなわち IC_{50} 値の高い) ウイルスが 7 例 (1.7%) みられた。それらのウイルスが分離された患者を patient 1-7 で示した。これら 7 例の低感受性ウイルスの NA 蛋白質にはいずれも 1 つのアミノ酸変異がみられ、その変異は Asp198Asn (3 例), Ile222Thr (3 例), Ser250Gly (1 例) であった。これらの変異はすべて、NA 阻害薬が結合する NA 活性部位近傍に存在しており (図 2)、薬剤耐性の付与に関わる変異であると考えられた。7 人のうち 4 人は発症前にインフルエンザに罹患した家族がいないことから、市中で耐性 B 型インフルエンザウイルスに感染したと考えられた。また、7 名の中には同胞発症例が 2 組含まれており、それぞれの同胞からは HA および NA 遺伝子の塩基配列が完全に一致する耐性ウイルスが検出された。これらの事実は、NA 阻害薬耐性 B 型インフルエンザウイルスが家族内で伝播したことを示すのみならず、市中でも耐性ウイルスの小規模な流行が生じた可能性を示唆するものである。

B 型インフルエンザに罹患した 362 人の小児 (平均 5.2 歳) におけるオセルタミビルの効果を検討すると、治療開始から解熱するまでの日数は平均 2.2 日であり、A 型インフルエン

ザウイルス (H3N2) に感染し治療を受けた小児が解熱するまでの日数 (平均 1.3 日) に比較して有意に ($P<0.001$) 長かった。すなわち、B 型インフルエンザに対するオセルタミビルの効果は A 型よりも低いことが明らかとなった。

B 型インフルエンザウイルスの NA 阻害薬に対する感受性は A 型に比べて低く、オセルタミビルによる治療効果も A 型より低かった。A 型ウイルスに比較して低頻度ながら、B 型インフルエンザウイルスもまた通常のオセルタミビルによる治療に伴って NA 阻害薬に対する耐性を獲得し得ることが明らかとなった。また、B 型ウイルスの NA 阻害薬耐性に関与する 4 種類の NA 変異を同定したが、このうち 3 種類はこれまで知られていなかった変異である。さらに重要なことは、NA 阻害薬耐性 B 型インフルエンザウイルスが家族内および市中でヒトからヒトへ伝播した可能性が示されたことである。これまで NA 阻害薬耐性インフルエンザウイルスはたとえ出現したとしても流行する可能性は低いと推測されており、実際に耐性ウイルスがヒトの間で伝播した証拠は見いだされていなかった。これは、NA 阻害薬耐性を規定するアミノ酸変異がウイルスの増殖に重要な役割を果たすシアル酸との結合部位 (NA 蛋白質の活性部位) そのものに生じるために、変異ウイルスの増殖能や伝播能は著しく障害されることが多いためである。しかし、我々の得た知見は、変異の種類によっては NA 阻害薬耐性ウイルスが病原性や伝播力を減ずることなくヒトの間で伝播し得ることを示唆するものであり、とりわけ日本のように NA 阻害薬を大量に消費する国においては耐性ウイルスの出現とその拡がりに厳重な監視を継続していく必要があるといえる。

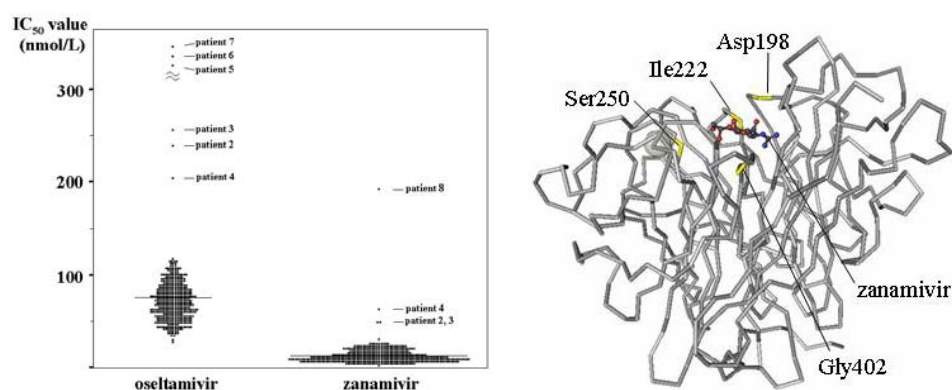


図 1。 422 人の未治療患者から分離された B 型インフルエンザウイルスのオセルタミビルとザナミビルに対する IC_{50} 値。シアリダーゼ阻害法によって求めた IC_{50} 値の散布図。棒線は平均値を示す。422 人の未治療患者から分離された B 型インフルエンザウイルスのオセルタミビルおよびザナミビルに対する IC_{50} の平均値 (標準偏差) はそれぞれ 74.9 (41.5) nmol/L および 12.2 (11.0) nmol/L であった。7 人から分離されたウイルスは著しく薬剤低感受性であり、その 7 人を患者番号で図中に示した。

図 2。 NA 阻害薬耐性 B 型インフルエンザウイルスの NA 蛋白質にみられたアミノ酸変異。インフルエンザウイルス B/Beijing/1/87 の NA 蛋白質とザナミビルの結合の様子を示した立体構造図。本研究で変異がみられたアミノ酸 (Asp198, Ile222, Ser250, Gly402) を黄色で表示している。NA 阻害薬耐性を規定するアミノ酸変異はいずれも、NA 阻害薬が結合するシアリダーゼ活性部位あるいはその近傍に位置している。

13. エボラウイルスの粒子形成機構

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野
カナダ科学研究所グループ カナダ科学研究所 高病原性病原体研究室

エボラウイルスは人を含む霊長類に感染し、時に 100%に近い致死率の出血熱を引き起こす。このような重篤な疾病を引き起こすにも関わらず、現在のところ、ワクチンも抗ウイルス薬も存在しない。その開発には、エボラウイルスの増殖機構を明らかにする必要がある。

エボラウイルスは 1 本鎖マイナス鎖の RNA をゲノムとして持つ。ウイルス粒子はエンベロープに包まれ、細長いフィラメント状の構造を示す。その内部には、ゲノム RNA-蛋白質複合体であるヌクレオカプシドが含まれている。感染細胞において、ウイルス粒子が形成されるためには、個々のウイルス蛋白質が適切に機能し、さらにウイルス蛋白質同士が特異的に相互作用する必要がある。しかし、エボラウイルスが増殖する際、ウイルス粒子形成に関わるウイルス蛋白質個々の機能、およびウイルス蛋白質間相互作用に関して、ほとんど明らかにされていなかった。そこで、哺乳類細胞を用いたエボラウイルス蛋白質発現系を開発し、アセンブリーから出芽に至るウイルス粒子形成機構の解析を行った。

マトリックス蛋白質 VP40 を哺乳類細胞に発現させると、脂質膜に結合し、細胞外に放出されることが明らかになった。細胞外に放出された VP40 は、界面活性剤存在下でのみプロテアーゼによって分解されたことから、脂質膜に包まれて放出されていることがわかった。電子顕微鏡観察により、VP40 が単独でフィラメント状のウイルス様粒子を形成することが明らかになった（図 1）。すなわち、VP40 がフィラメント状ウイルス粒子形成の中心的な役割を担うと考えられた。

ウイルス粒子内に含まれるヌクレオカプシドは、ゲノム RNA の転写・複製に必須の複合体である。続いてヌクレオカプシド複合体の形成機構を明らかにするために、様々な組み合わせのウイルス蛋白質を哺乳類細胞に発現させた。その結果、NP, VP24, VP35 の 3 種類の構造蛋白質が螺旋状ヌクレオカプシド様構造物の形成に必須であることがわかった。さらに、ヌクレオカプシド形成における個々のウイルス蛋白質の役割を調べたところ、NP が単独でチューブ状構造物を形成すること、それがヌクレオカプシド形成のコアとなることが示唆された。

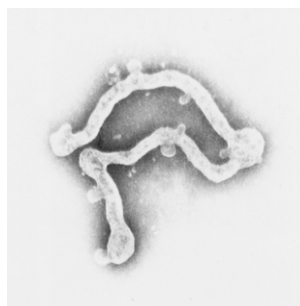
そこで、NP の性状を明らかにするために、NP の欠損変異シリーズを作製し、チューブ状構造物形成およびヌクレオカプシド様構造物形成に必須の NP 領域を探索した。その結果、チューブ状構造物の形成にもヌクレオカプシド様構造物の形成にも、N 末端の 450 アミノ酸が必須であることが明らかになった。すなわち、NP が形成するチューブ状構造物がヌクレオカプシド形成のコアとなると考えられた。

これまでに、VP40 がウイルス粒子の殻を、NP, VP24, VP35 がヌクレオカプシドを形成することが明らかになったが、成熟したウイルス粒子が形成されるには、ヌクレオカプシドがウイルス粒子の殻に取り込まなければならない。ヌクレオカプシドの細胞質内輸送およびウイルス粒子の殻への取り込みにどのウイルス蛋白質が関わっているかを明らかにするために、ヌクレオカプシドを構成する 3 種類の蛋白質とともに、様々な組み合わせでウイルス蛋白質を共発現させた。その結果、細胞質内輸送にもヌクレオカプシドの取り込みにも、VP40 が関与していることがわかった（図）。それらのステップには、NP-VP40 間の相互作用が重要であることもわかった。すなわち VP40 は、ウイルス粒子の殻を形成するだけでなく、エボラウイルス蛋白質を集合させるオーガナイザーとして、ウイルス粒子形成機

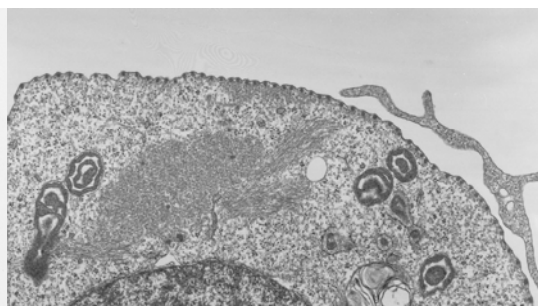
構の中心として機能していることが明らかになった。

さらに、感染性エボラウイルスを用いて、出芽様式の解析を行った。他のフィラメント状構造をもつウイルス粒子は細胞膜から垂直に出芽することが知られているが、エボラウイルスの場合、細胞膜から水平に浮上するように出芽していることが明らかになった(図3)。この独特な出芽様式が、エボラウイルスの増殖効率や強毒性に関与しているのかもしれない。

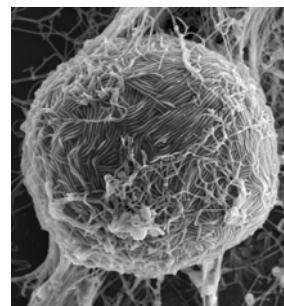
本研究により、エボラウイルスの増殖環における個々のウイルス蛋白質の機能、ならびにウイルス蛋白質間相互作用が明らかになった。ウイルス粒子形成機構の詳細をさらに明らかにすることで、今後、その機能や相互作用を阻害するような抗ウイルス剤開発につながると期待できる。



(図 1)



(図 2)



(図 3)

14. エボラウイルス感染における抗体依存性感染増強現象と病原性

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野
カナダ科学研究所グループ カナダ科学研究所 高病原性病原体研究室

エボラウイルスはヒトを含む霊長類に重篤な出血熱を引き起こす。その致死率はウイルス性出血熱の中では最も高く、時には 90% 近くにおよぶ。この非常に強い病原性に、エボラウイルスの表面糖蛋白質 (GP) の機能が重要であることが示唆されている。我々は、エボラウイルス GP に対して誘導される抗体の中に、ウイルスの感染性を増強するものが存在することを発見し、そのメカニズムを明らかにした。

我々は、エボラ Zaire ウイルスの GP に対するマウス抗血清の存在下でウイルスの感染性が増強される事を見出した。この抗血清を熱処理すると増強活性は失われ中和活性を示した。この成績は、GP に対する抗体にはウイルスの感染性を増強するものと中和するものがあり、その増強活性には血清中の何らかの易熱性成分が必要であることを示唆していた。次に、GP に対するマウスモノクローナル抗体を作出したところ、ウイルスの感染性を中和するものと正常血清存在下で感染性を増強するものの両方が得られ、感染増強抗体の存在が実証された。この感染増強現象はエボラ出血熱に感染し回復した患者の血清中にも認められるので、実際のエボラウイルス感染においても感染増強抗体が産生されることが判明した。この抗体依存性感染増強現象 (Antibody-dependent enhancement : ADE) はエボラウイルスが体内の多くの臓器で急激に増殖できるメカニズムの一つである可能性がある。

これまでに知られている ADE のメカニズムの殆どは Fc 受容体依存性である。ウイルスに結合した抗体が Fc 受容体を介して架橋することによって、ウイルスの感染性を増強すると考えられている (図 1)。この Fc 受容体介在性の ADE は、エボラウイルス感染においても確かに観察される。しかし、これは Fc 受容体を持つマクロファージ等の免疫細胞の感染でのみ観察される。また、抗体がウイルス蛋白質に結合することによって補体が活性化されることによって起こる ADE も幾つかのウイルスで知られている (図 2)。しかし、エボラウイルスの ADE は霊長類由来の腎臓の細胞でも起こる。この細胞は Fc 受容体を持たない。さらに補体の活性化を阻害した条件下でも ADE が観察された。詳細に解析を行った結果、エボラウイルスの ADE はこれまでに知られていなかった新しいメカニズムで起こる事が判明した。ADE に必要な血清成分は補体成分 C1q であり、GP に対する抗体は C1q と細胞表面の C1q 受容体を介してエボラウイルスの感染性を増強するのである (図 3)。抗体と C1q による架橋がウイルスの吸着効率を高める事によって、細胞に感染するウイルス量が増加すると考えられる。C1q 受容体は様々な種類の細胞に広く分布しており、エボラウイルスの主要な標的細胞である血管内皮細胞、肝細胞およびマクロファージにも存在する。一般に、IgG よりも IgM の方が C1q の結合効率が高いので、ウイルス感染時に産生される IgM による ADE が血液を介したエボラウイルスの急激な体内伝搬に関与している可能性がある。面白いことに、病原性の強い Zaire ウイルスとそれほど強くない Reston ウイルスの GP 間で、ADE 誘導活性を比較したところ、Fc 受容体介在性ならびに C1q およびそのレセプター介在性のいずれの場合も、Zaire ウイルスの方が有意に高いことが判明した。

ADE はエボラウイルスワクチンおよび抗体を用いた受動免疫法の開発を行う上で考慮すべき問題である。GP を発現する DNA ワクチンあるいはウイルスベクターによる感染防御効果が報告されているが、これらは細胞障害性 T 細胞が誘導された結果と考えられる。しかし、GP は確かに中和抗体の標的でもあり、中和抗体のみをマウスに予防的あるいは治療的に投与すると感染防御効果が認められる。したがって、ADE に関与する抗原決定基に人工的に変異を導入し、感染増強抗体を誘導せずに細胞性免疫と中和抗体のみを誘導できる GP ワクチンが理想的であろう。また、受動免疫には中和抗体のみを選択して行う方法が効果的

かもしれない。

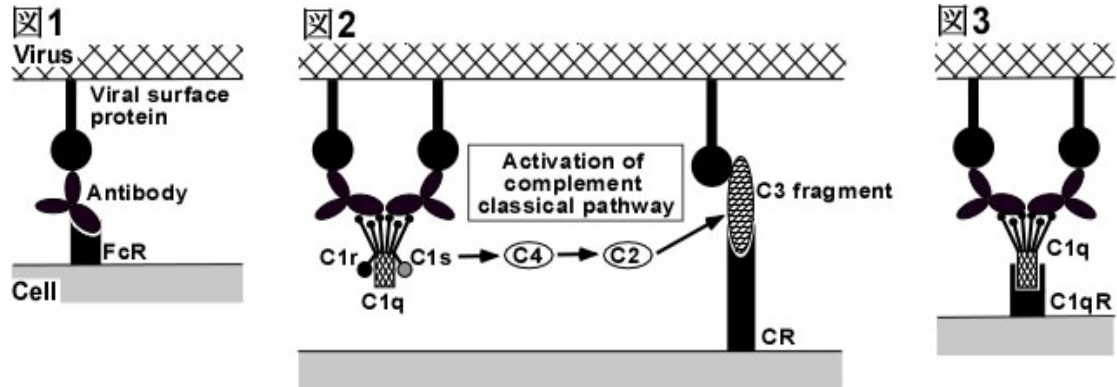


図 1-3。抗体依存性感染増強現象のメカニズム。これらの架橋がウイルスの細胞への吸着効率を高め、細胞に感染するウイルス量が増加する。

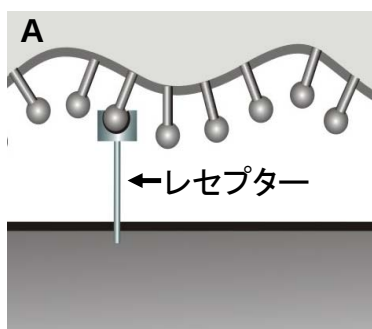
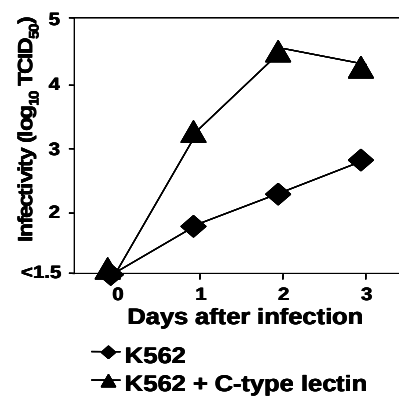
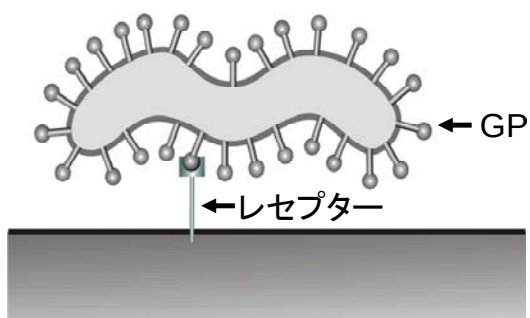
15. エボラウイルス感染の組織特異性と C 型レクチン

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野
カナダ科学研究所グループ カナダ科学研究所 高病原性病原体研究室

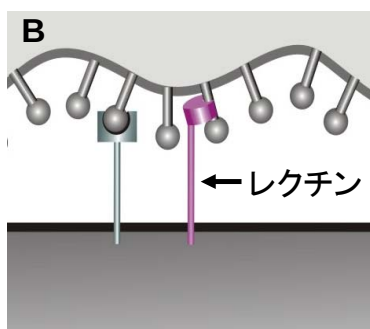
粘膜や傷口から体内に侵入したエボラウイルスはまず、マクロファージ、単球および樹状細胞等に感染する。これらの細胞は抗原提示細胞と呼ばれ、ウイルスに対する免疫応答を正常に誘導するための初期段階に非常に重要な役割を果たす。ウイルスが感染すると、これらの細胞は機能障害あるいは異常反応を起こし、正常な免疫応答を誘導できなくなる事がエボラウイルスの強い病原性に関わっていると考えられている。特にエボラウイルスは、本来マクロファージや樹状細胞が異物を取り込むために利用している分子である C 型レクチンと呼ばれる蛋白質を吸着補助因子として利用し、これらの細胞への感染性を高めている事が最近明らかになった。

C 型レクチンとはカルシウム依存性に糖鎖を認識し、結合する蛋白質の総称である。近年、C 型レクチンとウイルス感染との関わりが注目されている。そこで、フィロウイルスの GP には多数の糖鎖が付加されている事に着目し、ウイルスの細胞への侵入時における C 型レクチンの役割を調べた。ヒトのマクロファージや未成熟樹状細胞に発現し、galactose/*N*-acetylgalactosamine に結合する C-type レクチン(hMGL)を K562 細胞に発現させると、エボラウイルス GP をもつ VSV シュードタイプウイルスの感染性が上昇した。この現象は実際にエボラウイルスを用いた場合でも明らかであった。hMGL の認識するのは主に O-link の糖鎖であることから、エボラウイルス GP 上に O-link の糖鎖が多数存在する領域(ムチン様領域)を欠失させたミュータントウイルスを作出して同様の実験を行ったところ、感染性の上昇は殆ど見られなくなった。しかし、ムチン様領域を欠失させたウイルスは Vero 細胞における感染性は全く失わなかった(実際には、感染性が上がる)。つまり、このムチン様領域は、GP 本来の機能にとっては必須ではなく、hMGL とムチン様領域の結合は吸着補助因子として作用している可能性が高い。樹状細胞や肝細胞に発現する他の C-type レクチン(DC-SIGN 等)にも同様の作用がある事が明らかになっている。マクロファージ、樹状細胞あるいは肝細胞はフィロウイルスの主要な標的細胞であり、C-type レクチンとの親和性がエボラウイルスの組織特異性、さらにはウイルスの病原性発現に深く関わっていると考えられる。

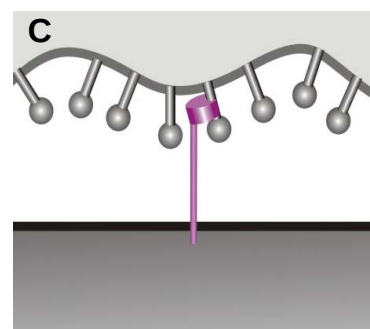
エボラウイルスに感染したマクロファージから過剰に産生される Tissue Factor により、様々な臓器の末梢血管内で血液凝固が進み、播種性血管内凝固症候群に陥ること、ならびに、感染マクロファージから過剰分泌される TNF- α は血管内皮細胞の透過性を促進することが示唆されている。すなわち、マクロファージへの感染がエボラウイルスの病態に特に深く関わっていると考えられ、hMGL を介したマクロファージへの感染効率の上昇は本ウイルスの病原性発現に関与している可能性が高い。しかし、フィロウイルスに感受性のない T 細胞に、C 型レクチンを発現させてもウイルスは感染できないので、これらの C タイプレクチンは GP に結合はするが、単独では本質的なレセプターとしては機能しないのかもしれない。さらに C タイプレクチンを発現していない細胞もフィロウイルスに対して感受性を示すことから、様々な細胞に広く存在するレセプターが存在するはずである。その Ubiquitous なレセプターの同定は、本ウイルスに対する効果的な治療薬の開発につながるかもしれない。



レクチン非発現細胞への感染



レクチン発現細胞への感染
→細胞への吸着効率の向上



感染可能？

16. Tyro3 ファミリー分子を介したエボラウイルス及びマールブルグウイルスの細胞侵入

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野
カナダ科学研究所グループ カナダ科学研究所 高病原性病原体研究室

エボラウイルスおよびマールブルグウイルス（以下フィロウイルス）はヒトを含めた霊長類に重篤で致死率の高い出血熱を引き起こす。フィロウイルスは霊長類以外にも実験的にはマウスやモルモット、コウモリにも感染する。感染個体内では、ほぼすべての臓器および細胞でウイルスが見出されるが、リンパ球には感染しないと考えられている。

感染に関わる宿主因子の解析は、主にシュードタイプウイルスを用いて行われている。本研究では、エボラウイルスの感染を担うとされるGP糖蛋白質を被ったレトロウイルスもしくは水疱性口内炎ウイルスによるシュードタイプウイルスを用いた。感染に関わる宿主因子として、これまで数種のカルシウム依存性レクチンが報告されているが、これらレクチンの発現分布はマクロファージや樹状突起細胞、血管内皮細胞などであり、上述のようなフィロウイルスの幅広い感染域を説明できない。我々は以前インテグリンの関与を報告したが、インテグリンに対する抗体はウイルスの侵入を50%くらいしか阻止しない。つまり、これら以外の未同定の分子がフィロウイルスの感染に関わっていると考えられるため、その同定を試みた。

実験はエボラウイルスの糖蛋白質を被ったシュードタイプウイルスを用いて開始した。エボラウイルス低感受性の細胞を高感受性に変えるような遺伝子エボラウイルスに高感受性の細胞が発現する遺伝子のなかからスクリーニングし、Ax1 という膜蛋白質を同定した。Ax1 分子はエボラウイルスのみでなく、マールブルグウイルスのシュードタイプウイルスの感染にも関わる分子であった（図1）。Ax1 分子に類似の分子としてDtk 分子およびMer 分子があり、これら3分子でTyro3 ファミリーを形成している。Dtk 分子およびMer 分子についても解析を行ったところ、Dtk 分子を発現させた細胞に対しシュードタイプウイルスの感染の増加が認められた（図1）。Mer 分子による感染の増加はそれほどではなかったが、この分子の発現量が限られていたためと考えられる。Ax1 分子やDtk 分子の発現分布はリンパ球以外であり、フィロウイルスの感染指向性と一致する。これまでフィロウイルスの感染とTyro3 ファミリー分子の関係を調べた報告はない。

これら3分子（Ax1、Dtk および Mer）の細胞外領域の分泌蛋白質を用い、感染阻害実験を行ったところ、Ax1 分泌型およびMer 分泌型はAx1 発現細胞へのシュードタイプウイルスの感染を効率良く阻害した。一方、Dtk 分泌型はDtk 発現細胞へのシュードタイプウイルスの感染を良く阻害した（図2）。このことは、Ax1 分子とMer 分子が作用するフィロウイルス糖蛋白質上の領域が重複し、Dtk 分子はそれとは別の領域に作用することを示唆している。エボラウイルスそのものを用いて、Ax1 分子やDtk 分子の効果を調べた。これらの分子を発現させた場合、細胞のエボラウイルス感受性が増加した（図3）。つまり本物のエボラウイルスの感染にも関わる宿主因子であることが確認された。シュードタイプウイルスでの感受性の増加度合いに比べエボラウイルスでの増加度合いが小さいのは、この実験で用いたリンパ球内ではウイルスゲノムの複製が十分でなかったためであると考えられる。このことはまた、感染個体でリンパ球での感染が見られないのは、リンパ球にある二重の障壁、つまり侵入と複製の二箇所での障壁によることを示しているかも知れない。Ax1 分子やDtk 分子がフィロウイルスの感染に必須であるかどうか調べた。Ax1 陽性 Dtk 陰性の細胞株を抗 Ax1 抗体で処理した後にシュードタイプウイルスを感染させたところ、完全ではないが有意な感染阻害が一部の細胞株で見られた（図4）。このことは、細胞種によってはAx1 分子を介した感染が起こるが、Ax1 分子に依存しない感染経路も存在することを示している。

以上、フィロウィルスの感染に関わる宿主因子として、新規に Tyro3 ファミリーの 3 分子 (Axl、Dtk および Mer) を同定した。フィロウィルスの感染機構は、Tyro3 ファミリーや複数のレクチン、インテグリンに関わる複雑なものであり、これらの分子を含めた総合的な解析が今後は必要となる。

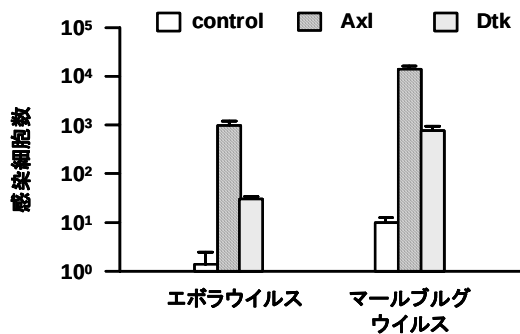


図1:シュドタイプウィルスの感染に対するAxl分子およびDtk分子の発現の効果

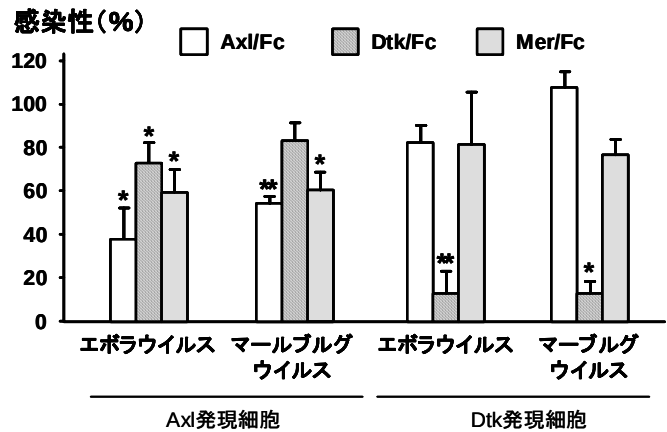


図2:シュドタイプウィルスの感染に対する分泌型分子の効果

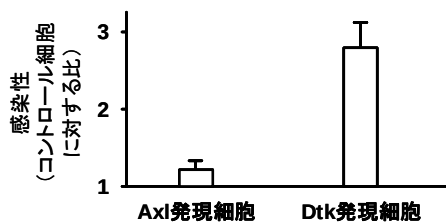


図3:エボラウイルスの感染

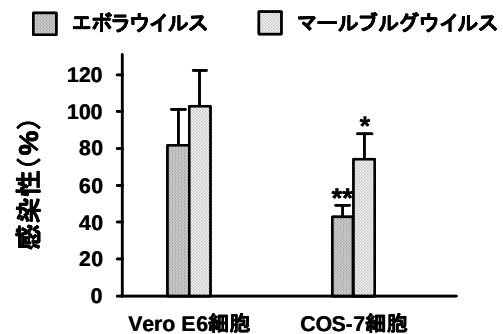


図4:シュドタイプウィルスの感染に対する抗Axl抗体の効果

17. マウスにおけるエボラウイルス高病原性発現の分子基盤

カナダ科学研究所グループ カナダ科学研究所 高病原性病原体研究室
ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

エボラ出血熱はフィロウイルス科のエボラウイルスによって惹き起こされ、全身感染、免疫応答の破綻、出血傾向、多臓器不全、ショック症候群を主症状とする非常に致死率の高いウイルス性感染症である。特に、最も病原性の高いザイールエボラウイルス（以下、ZEBOV）感染によりヒトとサルに惹き起こされる出血熱の致死率は 70–100%に達し、これは急性感染症では、非治療時の狂犬病（致死率約 100%）に次ぐ高い致命率である。このように、何故エボラウイルスは、非常に高い病原性有し、どのようにして感染個体の生体システムを破壊するのかという疑問は、基礎ウイルス学の観点のみならず、治療法、ワクチンの開発といった本感染症対策の点からも重要である。

エボラウイルスの病原性発現の分子基盤の一端を明らかにするために、感染マウスモデルは非常に有用なシステムである。これまでに 3 種類のエボラウイルス感染動物モデル(サル、モルモット、マウス)が確立されている。ヒトやサルへの感染とは異なり、通常、ZEBOV は、マウスに無症候感染を起こす。そこで野生株（以下、WT-ZEBOV）をマウスで継代することによりマウスに致死的な感染を惹起する ZEBOV マウス馴化株（MA-ZEBOV）が作製された。通常、非病原性のウイルスが宿主（本例ではマウス）に対して病原性を示すようになる“馴化”というプロセスは、非馴化ウイルスが継代されることによって、ウイルス遺伝子に変異が蓄積し、宿主側の障壁を越える能力を獲得したウイルスが選択されることである。即ち、馴化の過程で起きた蛋白質あるいは遺伝子上の機能的変化が、ウイルスが感染個体内で病原性を発現する為に必要なウイルス側の因子だと考えられる。このような背景から、エボラウイルスがマウスで致死的な感染を惹起する為に重要なウイルス側因子を同定するために、本ウイルスがマウスに馴化する過程で起きた病原性獲得・発現の機序の解析を行った。

まず、マウス馴化 MA-ZEBOV の全長遺伝子配列を決定し、親株である非馴化 WT-ZEBOV の配列と比較した。その結果、MA-ZEBOV の遺伝子上には、ヌクレオキャプシドを形成する核蛋白質 NP と RNA の転写・複製を助ける因子で宿主のインターフェロン（IFN）応答も阻害する VP35、ウイルス粒子成熟に関わり IFN 応答阻害能を有する VP24 のそれぞれ 1 ヶ所、RNA の合成を行う RNA ポリメラーゼ L に 2 ヶ所、ウイルスの細胞への侵入を担うスパイク糖蛋白質 GP に 3 ヶ所のアミノ酸置換を伴う変異及び非翻訳領域 2 ヶ所に塩基置換・挿入の計 10 ヶ所に変異が認められた。この結果からウイルス蛋白質の機能促進もしくは遺伝子調節領域の変異が ZEBOV のマウスにおける高病原性に関与していることがわかった。そこで、どの蛋白質あるいは遺伝子調節領域が、この病原性獲得に関わっているかを明らかにするた

図1. エボラウイルスのマウスにおける病原性を決定している遺伝子変異の同定

ウイルス	ウイルスの遺伝子型							マウスでの病原性
	NP	VP35	GP	NCR		VP24	L	
				VP30	VP24			
MA-ZEBOV								
MA-RG								
MA-NP _{WT}								
MA-VP35 _{WT}								
MA-GP _{WT}								
MA-VP24 _{WT}								
MA-L _{WT}								
WT-NP/24 _{MA}								
WT-NP _{MA}								
WT-VP24 _{MA}								
WT-ZEBOV								

マウス馴化由来

野生株由来

死亡

生存

めに、リバーシジェネティクス法を用いて人工的に変異エボラウイルスを作出し、これらの変異ウイルスの病原性をマウスで比較した。その結果、NP と VP24 の 2 ヶ所のアミノ酸置換がマウスに致死的な感染を惹起することに必須であることが明らかになった (図 1)。NP と VP24 の変異を有するウイルスは、NP と VP24 の変異を有していない非病原性のウイルスと比べ、感染マウス臓器内で高い増殖能を示した。次に、何故、NP と VP24 の変異によってマウスでのウイルス増殖能が促進されたかを調べるために、これらの変異を有するウイルスと変異のない非病原性ウイルスのマウスマクロファージ系培養細胞における増殖能を比較した。さらに VP24 が IFN 応答阻害能を有していることから IFN に対する抵抗性の比較も行った。これらの結果から、NP と VP24 の変異を有するウイルスは、他のウイルスと比較してマクロファージ由来の細胞において高い増殖能を示すとともに、マウスの IFN α/β による抗ウイルス活性に抵抗性を示した。

以上、エボラウイルスのマウスに対する病原性獲得には、核蛋白質 NP と膜蛋白質 VP24 の変異が必須であることが示された。今回初めてエボラウイルスのウイルス蛋白質と病原性の関連が明らかになったが、今後はこれらの変異がどのようなメカニズムでウイルスの病原性を高めるかを分子レベルで解明する予定である。

18. インフルエンザウイルス核蛋白質複合体と相互作用する宿主蛋白質

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

ウイルスは自己の増殖に必要なシステムを宿主の細胞に依存するため、増殖過程においてウイルス蛋白質と宿主蛋白質の相互作用は必須である。したがって、ウイルスの増殖機構を細胞レベルで理解するためには、ウイルスと宿主の分子レベルの相互作用を把握することが重要となる。近年のプロテオミクスの進展により、細胞内の蛋白質は様々な相互作用を介して複雑なネットワークを構成することが明らかになってきた。一方、ウイルス研究では、これまでにいくつかの宿主蛋白質が、ウイルスの増殖の特定のステップに関わる因子として同定された。これらの成果は、ウイルスの増殖過程のある特定の機構を説明するには有効であるが、細胞内の相互作用の全体像を把握するには不十分である。そこで、ウイルスの蛋白質が細胞内相互作用ネットワークのどこに位置づけられるかを鳥瞰するために、インフルエンザウイルス蛋白質と相互作用する蛋白質の網羅的な解析を行った。

インフルエンザウイルスの核蛋白質複合体 (RNP) は、核内でウイルス遺伝子の転写・複製を行う機能的な複合体であり、遺伝子合成、核外輸送そして産生されるウイルス粒子への取り込み過程には、様々な宿主蛋白質が関与すると考えられる。そこで、インフルエンザウイルスの増殖に関与する宿主蛋白質を網羅的に検索するために、RNP と直接間接を問わず相互作用する蛋白質を細胞から抽出し、それぞれの蛋白質を質量分析法で同定した。

RNP はウイルスゲノム (vRNA)、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼのサブユニット (PB1、PB2、PA 蛋白質)、そして vRNA に結合する NP 蛋白質で構成される複合体である。細胞で人工的にモデル RNP を構築するために、vRNA 発現プラスミドと PB1、PB2、PA、NP の各蛋白質発現プラスミドを同時に細胞に導入した。vRNA は、構築した RNP からの遺伝子発現を確認するために、ウイルス遺伝子を GFP または luciferase 遺伝子に置き換えた。RNP を細胞からアフィニティ抽出するために、RNP に最も多く含まれる NP のアミノ末端に FLAG エピトープタグを付加した。

プラスミドを導入された細胞において、レポーター遺伝子の発現が検出された。また、モデル RNP はウイルス様粒子に取り込まれることを確認した。これらの結果は、モデル RNP はウイルス RNP と同じ機能を維持していることを示す。つぎに、モデル RNP を発現する細胞を界面活性剤処理により細胞質画分と核画分に分け、核画分からは、さらに超音波処理により核細胞質画分を調製した。核細胞質画分から抗 FLAG 抗体でモデル RNP を抽出し、含まれる蛋白質を SDS-PAGE で展開した。クマシーブルー染色により、モデル RNP と共に約 153kDa から 15kDa に至る 23 種類の蛋白質が抽出された (図 1)。泳動したゲルを主要なバンドを含むように 7 個のブロックに分け、それぞれに含まれる蛋白質をトリプシンで断片化し、タンデム型質量分析機を用いて断片末端のアミノ酸配列を決定した。得られた情報を Mascot データベースで照合し、該当する蛋白質を検索した。表 1 に同定された宿主蛋白質を示した。多くの蛋白質は、mRNA の生合成に関わる heterogeneous nuclear ribonucleoprotein で、そのほかに核内基

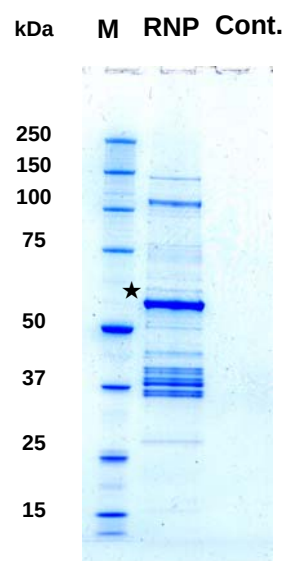


図1. 抽出したモデル RNP の SDS-PAGE
M: 分子量マーカー、★は FLAG タグ融合 NP

質を構成する蛋白質や RNA helicase が含まれていた。

表 1. モデル RNP と相互作用する主要な宿主蛋白質

ATP-dependent RNA helicase A
matrin 3
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U isoform b
Interleukin enhancer binding factor 3 isoform a
dsRNA binding protein NFAR-2/MPP4
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D isoform c;AU-rich element RNA binding protein 1
similar to heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3
similar to helix-destabilizing protein
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1, isoform B1
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C (C1/C2)
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, isoform a
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C, isoform b

heterogeneous nuclear ribonucleoprotein は mRNA の合成からスプライシング、核外輸送に関与する。これらの蛋白質が多く検出されたことは、ウイルス RNP は細胞の mRNA 生合成に関わる蛋白質の相互作用ネットワークの中に位置づけられることを示す。すなわち、RNP の複製・転写過程は細胞の mRNA 生合成過程と関連することを強く示唆する。

RNA helicase は、helicase 活性に加えて RNA 結合蛋白質の入れ替えを促進する RNPase の機能と細胞内の 2 本 RNA を検出するセンサーとして機能が知られている。このような観点から、ウイルス RNP と ATP-dependent RNA helicase A の相互作用がどのような機能的な意味があるのかは非常に興味深い。

RNA の合成を行う機能的構造体である RNP が、細胞の mRNA 生合成に関わる蛋白質の相互作用ネットワークの中に位置づけられたことは本アッセイが正しく機能していることを証明している。従って、今回同定された宿主蛋白質と相互作用のさらなる解析は、インフルエウイルスの増殖過程の解明に有用な情報を提供するものと思われる。

19. エボラウイルス VP40 と相互作用する細胞内輸送機構 COPII

ウイルス解析・開発グループ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野

エボラウイルスは侵入、複製、転写、翻訳、出芽等の過程で多様な細胞因子と相互作用し、細胞機能を巧みに利用または阻害しながら増殖している。近年、いくつかのウイルスのマトリクス蛋白質がその Late-domain を介して ESCRT-I の構成蛋白質 Tsg101 と相互作用し、その結果、宿主の ESCRT-I/II/III の機能をウイルスの出芽に利用していることが明らかとなった。エボラウイルスの膜蛋白質 VP40 でも同様の成績が得られている。ところが、VP40 の Late-domain を破壊した組換えエボラウイルスを作製したところ、このウイルスは培養細胞において親株より多少劣るものの 10^7 /ml まで増殖した。つまり、VP40 と Tsg101 の相互作用はウイルスの出芽過程に必須ではないことがわかった。そこで、エボラウイルスの出芽メカニズムの解明のため、VP40 と相互作用する宿主蛋白質の同定を試みた。

まず、VP40 と相互作用する宿主蛋白質を免疫共沈降法および質量分析により検索したところ、Sec24C が同定された。Sec24C は、小胞体からゴルジ装置への輸送を担う COPII 輸送の構成蛋白質 Sec24 family の一つである。その役割は小胞の形成、積荷の選択および濃縮である（図 1）。COPII 輸送は、GTPase である Sar1 がトリガーとなり Sec23/24 複合体の形成を起点に開始される。

通常 VP40 は形質膜に局在する。一方、Sec24C は核周辺の小胞体領域に存在し、両者の細胞内局在は異なる。ところが、両者を細胞内で共発現させると両蛋白質は形質膜に共局在した（図 2）。また、Sec23A の細胞内局在も同様に核周辺から形質膜下へと変化した。

次に、COPII 輸送のトリガーである Sar1 に H79G のアミノ酸置換を導入した dominant negative 変異体、または RNAi により Sec24C または Sar1 の mRNA を特異的にノックダウンすることにより COPII 輸送を阻害し、VLP 形成効率を比較した。COPII 輸送を Sar1_H79G 変異体により阻害した場合、VLP 形成効率は 12% まで減少していた（図 3）。RNAi を用いて Sec24C または Sar1 の発現抑制し COPII 輸送を阻害した場合も、VLP 形成効率はそれぞれ 38% または 42% に低下していた（表 1）。また、Sar1_H79G 変異体を用いて COPII 輸送を阻害した細胞内では、VP40 の形質膜下への局在が著しく阻害されていた（図 4）。

さらに、VP40 の欠失変異体やアラニン置換変異体を作製し Sec24C との相互作用を検討した結果、VP40 のアミノ酸 303-307 位が相互作用部位であることが明らかとなった。その 303-307 位のアミノ酸をそれぞれアラニンに置換した VP40 変異体では VLP 放出量が著しく減少していた（表 2）。野生型 VP40 が形質膜下に局在するのに対し、Sec24C との親和性が減少した変異 VP40 は細胞質に留まり形質膜下への局在は示さなかった。これは、Sar1_H79G により COPII 輸送を阻害した場合に認められた VP40 の細胞内局在と同様であった。すなわち、Sec24C との親和性の低下と VLP 放出および VP40 の細胞膜下への局在は密接に関係していることが示された。例外として、305 位のメチオニンをアラニンに置換した変異体だけは、VLP の放出量が減少しているにも関わらず、Sec24C との親和性は上昇していた。

以上の成績から、エボラウイルスは VP40 が細胞内輸送機構である COPII と相互作用することにより粒子形成の場である形質膜直下に運ばれることが明らかになった。現在、COPII がウイルスマトリクス蛋白質の細胞内輸送に普遍的に重要であるかどうかを検討中である。

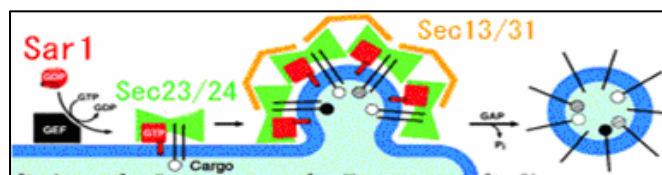


図1 COPII 輸送の模式図

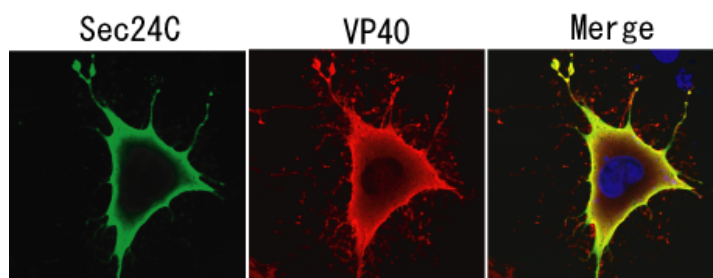


図2 Sec24CとVP40の共発現時の細胞内局在

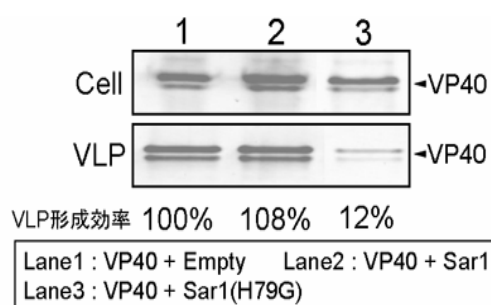


図3 Sar1 Dominant Negative変異体によるVLP放出の阻害

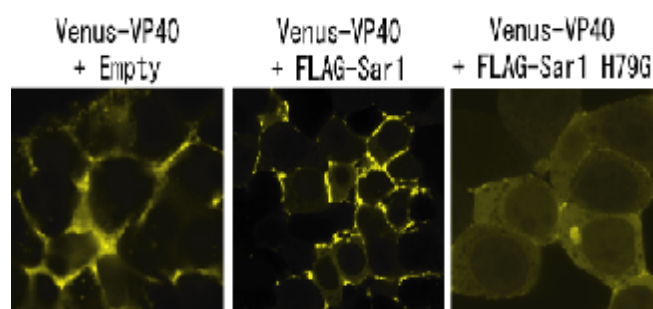


図4 蛍光蛋白質 (Venus) 融合VP40の細胞内局在

表1 RNAi効果とVLP放出効率

		Normal 293	shGFP 293	shSec24C 293	shSar1 293
mRNA発現	Sec24C	100	101	44	113
	Sar1	100	101	127	51
VLP放出効率		100	93	38	42

表2 Sec24Cとの相互作用部位に変異を持つVP40の性状

	Wild	L303A	T304A	M305A	V306A	I307A	T308A
親和性	++	+	++	+++	+	+	++
VLP放出	++	+	++	+	+	±	++
形質膜への集簇	○	×	○	○	×	×	○

4 研究参加者

研究グループ名：ウイルス解析・開発グループ（河岡義裕）

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期	備考
河岡義裕	東京大学 医科学研究所	教授	ウイルス増殖機構の解析方法の確立と新規ワクチンならびにワクチンベクターの設計に必要な情報を提供	H13. 12～H19. 3	CREST 研究員 (H15. 4～16. 8)
堀本泰介	東京大学 医科学研究所	助教授	ウイルス増殖に必要な宿主遺伝子の役割解明	H13. 12～H19. 3	
五藤秀男	東京大学 医科学研究所	助手	ウイルス粒子形成におけるウイルスと宿主遺伝子産物間の相互作用の解明	H13. 12～H19. 3	
高田礼人	北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター	教授	スペイン風邪ウイルスおよびエボラウイルスの病原性解明	H13. 12～H19. 3	
新矢恭子	鳥取大学	助教授	ウイルス感染動物における病理学的解析	H16. 4～H19. 3	
坂井(田川)優子	東京大学 医科学研究所	助手	宿主細胞遺伝子の同定	H13. 12～H19. 3	
岩附(堀本)研子	東京大学 医科学研究所	特任助手	ウイルス粒子形成におけるウイルス RNA の役割	H15. 4～H19. 3	
下島昌幸	東京大学 医科学研究所	助手	エボラウイルスレセプターの同定	H17. 4～H19. 3	
伊藤睦美	東京大学 医科学研究所	技官	半生ベクター効果判定	H15. 4～H19. 3	
野田岳志	東京大学 医科学研究所	特任助手	インフルエンザウイルス及びエボラウイルス粒子形成機構の解明	H14. 4～H19. 3	
渡辺登喜子	東京大学 医科学研究所	ポスト・ドクトラルフェロー	ウイルス粒子形成におけるウイルス RNA の役割	H14. 4～H14. 8	CREST 研究員 (H14. 4～14. 8)

海老原秀喜	東京大学 医科学研究所	特任助手	スペイン風邪ウイルス およびエボラウイルス の分子生物学的解析	H15. 5～H19. 3	CREST 研究員 (H15. 5～ H18. 7)
富田有里子	東京大学 医科学研究所	ポスト・ド ク ト ラ ル フェロー	抗エボラウイルススク リーニング系の確立	H16. 8～H19. 3	CREST 研究員 (H16. 8～ H17. 9)
藤井 健	東京大学 医科学研究所	ポスト・ド ク ト ラ ル フェロー	NS 遺伝子パッケージン グシグナルの同定	H14. 4～H17. 12	CREST 研究員 (H17. 4～ H17. 12)
村本裕紀子	東京大学 医科学研究所	ポスト・ド ク ト ラ ル フェロー	PB2 遺伝子パッケージ ングシグナルの同定	H14. 4～H19. 3	CREST 技術員 (H17. 4～ H17. 9)
金野美佐子	東京大学 医科学研究所	研 究 補 助 員	研究補助、事務一般	H14. 4～H19. 3	CREST 事務員 (H14. 4～ H18. 3)
白石京子	東京大学 医科学研究所	研究員	半生ワクチンの効果検 定	H14. 4～H19. 3	
畠山修司	東京大学 医科学研究所	研究員	PB1 遺伝子パッケージ ングシグナルの同定	H14. 5～H19. 3	
木曾真紀	東京大学 医科学研究所	D4	NP 遺伝子パッケージン グシグナルの同定	H15. 4～H19. 3	
坂内 天	東京大学 医科学研究所	博士課程 大学院生	M 遺伝子パッケージン グシグナルの同定	H15. 4～H16. 3	
山田晋弥	東京大学 医科学研究所	D4	PA 遺伝子パッケージン グシグナルの同定	H15. 4～H19. 3	
小澤 真	東京大学 医科学研究所	D3	ウイルス RNA 分節間の hierarchy	H16. 4～H19. 3	
山吉誠也	東京大学 医科学研究所	D3	多価ワクチンの開発	H16. 4～H19. 3	
角川学士	東京大学 医科学研究所	D2	ウイルス増殖に関わる 宿主遺伝子	H17. 4～H19. 3	
牧野晶子	東京大学 医科学研究所	D2	半生エボラワクチンの 開発	H17. 4～H19. 3	

田村大輔	東京大学 医科学研究所	D1	抗インフルエンザ薬 耐性獲得の機序	H18. 4～H19. 3	
村上晋	東京大学 医科学研究所	D1	インフルエンザウイル ス蛋白質と相互 作用する宿主蛋白質の 同定	H18. 4～H19. 3	
岩佐彩香	東京大学 医科学研究所	M2	トリインフルエンザ ウイルスの解析	H17. 10～H19. 3	
今井博貴	東京大学 医科学研究所	M1	エボラウイルス高病原 性発揮機構の解析	H18. 4～H19. 3	
稲垣亜里沙	東京大学 医科学研究所	M1	H5N1 ウイルスの進化	H18. 4～H19. 3	
高橋慧	東京大学 医科学研究所	研究生	エボラウイルス蛋白質 と相互作用する 宿主蛋白質の同定	H18. 4～H19. 3	

研究グループ名：カナダ科学研究所グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期	備考
Heinz Feldmann	カナダ科学研 究所	部長	スペイン風邪ウイル スおよびエボラ ウイルスの培養細 胞ならびに動物モ デルにおける増殖 過程の解析	H15. 4～H19. 3	
河岡義裕	東京大学 医科学研究所	教授	ウイルス増殖機構 の解析方法の確立 と新規ワクチンな らびにワクチンベ クターの設計に必 要な情報を提供	H13. 12～H19. 3	
海老原秀喜	東京大学 医科学研究所	特任助手	スペイン風邪ウイル スおよびエボラ ウイルスの分子生 物学的解析	H15. 5～H19. 3	CREST 研究員 (H15. 5～ H18. 7)

5 招聘した研究者等

氏名	所属・役職	滞在先	滞在期間	招聘の目的
Le thi Quynh Mai	NIHE,Hanoi, Vice chief of Dept of Virology	東京大学 医科学研究所	2004. 5. 18～ 2004.7.1 2005.4.11～ 2005.4.21	共同研究
Dinh Thi Thuy Van	Caompany for Vaccine biological production, Researcher	東京大学 医科学研究所	2004. 5. 18～ 2004.7.1	共同研究
Nidom Chairul Anwar	Airlangga University Lecturer	東京大学 医科学研究所	2004. 10. 31～ 2004.12.25 2005.3.1～3.31	共同研究
Zejun Li	Harbin Veterinary Research Institute Assistant Professor	東京大学 医科学研究所	2005.2.23～ 2005.3.5	共同研究
Cheng Jun Li	Harbin Veterinary Research Institute Researcher	東京大学 医科学研究所	2005.2.23～ 2005.3.5	共同研究

6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内誌 0 件、国際誌 67 件)

Neumann G, Feldmann H, Watanabe S, Lukashevich I, Kawaoka Y. Reverse genetics demonstrates that proteolytic processing of the Ebola virus glycoprotein is not essential for replication in cell culture. **J Virol** 76:406-410, 2002.

Watanabe T, Watanabe S, Neumann G, Kida H, Kawaoka Y. Immunogenicity and protective efficacy of replication-incompetent influenza virus-like particles. **J Virol** 76:767-773, 2002.

Noda T, Sagara H, Suzuki E, Takada A, Kida H, Kawaoka Y. Ebola virus VP40 drives the formation of virus-like filamentous particles along with GP. **J Virol** 76:4855-4865, 2002.

Ito T, Kobayashi Y, Morita T, Horimoto T, Kawaoka Y. Virulent influenza A viruses induce apoptosis in chickens. **Virus Res** 84:27-35, 2002.

Hatta M, Halfmann P, Wells K, Kawaoka Y. Human influenza A viral genes responsible for the restriction of its replication in duck intestine. **Virology** 295:250-255, 2002.

Watanabe T, Watanabe S, Kida H, Kawaoka Y. Influenza A virus with defective M2 ion channel activity as a live vaccine. **Virology** 299:266-270, 2002.

Shengqing Y, Kishida N, Ito H, Kida H, Otsuki K, Kawaoka Y, Ito T. Generation of velogenic Newcastle disease viruses from a nonpathogenic waterfowl isolate by passaging in chickens. **Virology** 301:206-211, 2002.

Takada A, Feldmann H, Stroehrer U, Bray M, Watanabe S, Ito H, McGregor M, Kawaoka Y. Identification of protective epitopes on Ebola virus glycoprotein at the single amino acid level using recombinant vesicular stomatitis viruses. **J Virol** 77:1069-1074, 2003.

Mueller SN, Jones CM, Chen W, Kawaoka Y, Castrucci MR, Heath WR, Carbone FR. The early expression of glycoprotein B from herpes simplex virus can be detected by antigen-specific CD8⁺ T cells. **J Virol** 77: 2445-2451, 2003.

Barman S, Adhikary L, Kawaoka Y, Nayak DP. Influenza A virus hemagglutinin containing basolateral localization signal does not alter the apical budding of a recombinant influenza A virus in polarized MDCK cells. **Virology** 305:138-52, 2003.

Shiraishi K, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, Goto H, Sugaya N, Kawaoka Y. High frequency of resistant viruses harboring different mutations in amantadine-treated children with influenza. **J Inf Dis** 188:57-61, 2003.

Fujii Y, Goto H, Watanabe T, Yoshida T, Kawaoka Y. Selective incorporation of influenza virus RNA segments into virions. **Proc Natl Acad Sci USA** 100:2002-2007, 2003.

Ogino M, Ebihara H, Lee BH, Araki K, Lundkvist A, Kawaoka Y, Yoshimatsu K, Arikawa J. Use of vesicular stomatitis virus pseudotypes bearing Hantaan or Seoul Virus envelope proteins in a rapid and safe neutralization test. **Clin Diagn Lab Immunol** 10:154-160, 2003.

Hatta M, Kawaoka Y. The NB protein of influenza B virus is not necessary for virus replication in vitro. **J Virol** 77:6050-6054, 2003.

Takada A, Feldmann H, Ksiazek TG, Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. **J Virol** 77:7539-7544, 2003.

Horimoto T, Takada A, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Goto H, Kawaoka Y. Generation of influenza A viruses with chimeric (type A/B) hemagglutinins. **J Virol** 77:8031-8038, 2003.

Takada A, Matsushita S, Ninomiya A, Kawaoka Y, Kida H. Intranasal immunization with formalin-inactivated virus vaccine induces a broad spectrum of heterosubtypic immunity against influenza A virus infection in mice. **Vaccine** 21:3212-3218, 2003.

Watanabe T, Watanabe A, Noda T, Fujii Y, Kawaoka Y. Exploitation of nucleic acid packaging signals to generate a novel influenza virus-based vector stably expressing two foreign genes. **J Virol** 77:10575-10583, 2003.

Yasuda J, Nakao M, Kawaoka Y, Shida H. Nedd4 regulates egress of Ebola virus-like particles from host cells. **J Virol** 77:9987-9992, 2003.

Kondo T, McGregor M, Chu O, Chen D, Horimoto T, Kawaoka Y. Protective effect of epidermal powder immunization in a mouse model of equine herpesvirus-1 infection. **Virology** 318:414-419, 2004.

Watanabe S, Watanabe T, Noda T, Takada A, Feldmann H, Jasenosky LD, Kawaoka Y. Production of novel Ebola virus-like particles from cDNAs: an alternative to Ebola virus generation by reverse genetics. **J Virol** 78: 999-1005, 2004.

Maeda Y, Goto H, Horimoto T, Takada A, Kawaoka Y. Biological significance of the U residue at the -3 position of the mRNA sequences of influenza A viral segments PB1 and NA. **Virus Res**

100:153-157, 2004.

Takada A, Fujioka K, Tsuiji M, Morikawa A, Higashi N, Ebihara H, Kobasa D, Feldmann H, Irimura T, Kawaoka Y. A human macrophage C-type lectin specific for galactose and *N*-acetylgalactosamine promotes filovirus entry. **J Virol** 78:2943-2947, 2004.

Garulli B, Kawaoka Y, Castrucci MR. Mucosal and systemic immune responses to a human immunodeficiency virus type 1 epitope induced upon vaginal infection with a recombinant influenza A virus. **J Virol** 78:1020-1025, 2004.

Horimoto T, Takada A, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y. A protective immune response in mice to viral components other than hemagglutinin in a live influenza A virus vaccine model. **Vaccine** 22:2244-2247, 2004.

Horimoto H, Fukuda N, Iwatsuki-Horimoto K, Guan Y, Lim W5, Peiris M, Sugii S, Odagiri T, Tashiro M, Kawaoka Y. Antigenic differences between H5N1 human influenza viruses isolated in 1997 and 2003. **J Vet Sci** 66:303-305, 2004.

Iwatsuki-Horimoto K, Kanazawa R, Sugii S, Kawaoka Y, Horimoto T. The index influenza A virus subtype H5N1 isolated from a human in 1997 differs in its receptor binding properties from a virulent avian influenza virus. **J Gen Virol** 85:1001-1005, 2004.

Shinya K, Hamm S, Hatta M, Ito H, Ito T, Kawaoka Y. PB2 amino acid at position 627 affects replicative efficiency, but not cell tropism, of Hong Kong H5N1 influenza A viruses in mice. **Virology** 320:258-266, 2004.

Shinya K, Fujii Y, Ito H, Ito T, Kawaoka Y. Characterization of a neuraminidase-deficient influenza A virus as a potential gene delivery vector and a live vaccine. **J Virol** 78:3083-3088, 2004.

Hatta M, Goto H, Kawaoka Y. Influenza B virus requires BM2 protein for replication. **J Virol** 78: 5576-5583, 2004.

Barman S, Adhikary L, Chakrabarti AK, Bernas C, Kawaoka Y, Nayak DP. Role of transmembrane domain and cytoplasmic tail amino acid sequences of influenza A virus neuraminidase in raft association and virus budding. **J Virol** 78: 5258-5269, 2004.

Iwatsuki-Horimoto K, Horimoto T, Fujii Y, Kawaoka Y. Generation of influenza A virus NS2(NEP) mutants with an altered nuclear export signal sequence. **J Virol** 78:10149-10155, 2004.

Horimoto T, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Kawaoka Y. Influenza A viruses possessing type B hemagglutinin and neuraminidase: potential as vaccine components. **Microbes and Infection** 6:579-583, 2004.

Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, Shiraishi K, Kawakami C, Kimura K, Hayden FG, Sugaya N, Kawaoka Y. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. **Lancet** 364:759-765, 2004.

Kobasa D, Takada A, Shinya K, Hatta M, Halfmann P, Theriault S, Suzuki H, Nishimura H, Mitamura K, Sugaya N, Usui T, Murata T, Maeda Y, Watanabe S, Suresh M, Suzuki T, Suzuki Y, Feldmann H, Kawaoka Y. Enhanced virulence of influenza A viruses with the haemagglutinin of the 1918 pandemic virus. **Nature** 431:703-707, 2004.

Theriault S, Groseth A, Neumann G, Kawaoka Y, Feldmann H. Rescue of Ebola virus from cDNA using heterologous support proteins. **Virus Res** 106:43-50, 2004

Shinya K, Suto A, Kawakami M, Sakamoto H, Umemura T, Kawaoka Y, Kasai N, Ito T. Neurovirulence of H7N7 influenza A virus: brain stem encephalitis accompanied with aspiration pneumonia in mice. **Arch Virol** 150:1653-1660, 2005.

Noda T, Aoyama K, Sagara H, Kida H, Kawaoka Y. Nucleocapsid-like structures of Ebola virus reconstructed using electron tomography. **J Vet Med Sci** 67:325-328, 2005.

Mase M, Tsukamoto K, Imada T, Imai K, Tanimura N, Nakamura K, Yamamoto Y, Hitomi T, Kira T, Nakai T, Kiso M, Horimoto T, Kawaoka Y, Yamaguchi S. Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003-2004 influenza outbreaks in Japan. **Virology** 332:167-176, 2005

Fujii K, Fujii Y, Noda T, Muramoto Y, Watanabe T, Takada A, Goto H, Horimoto T, Kawaoka Y. The importance of both the coding and segment-specific noncoding regions of the influenza A virus NS segment for its efficient incorporation into virions. **J Virol** 79:3766-3774, 2005.

Maeda Y, Hatta M, Takada A, Watanabe T, Goto H, Neumann G, Kawaoka Y. Live bivalent vaccine for parainfluenza and influenza virus infections. **J Virol** 79:6674-6679, 2005.

Shinya K, Hatta M, Yamada S, Takada A, Watanabe S, Halfmann P, Horimoto T, Neumann G, Lim W, Guan Y, Peiris M, Suzuki T, Suzuki Y, Kawaoka Y. Characterization of a human H5N1 influenza A virus isolated in 2003. **J Virol** 79:9926-9932, 2005.

Hatakeyama S, Sakai-Tagawa Y, Kiso M, Goto H, Kawakami C, Mitamura K, Sugaya N, Suzuki Y, Kawaoka Y. Enhanced expression of an α 2,6-linked sialic acid on MDCK cells improves the isolation of human influenza viruses and the evaluation of their sensitivity to a neuraminidase inhibitor. **J Clin Micro** 43:4139-4146, 2005.

Neumann G, Ebihara H, Takada A, Noda T, Kobasa D, Jasenosky LD, Watanabe S, Kim JH, Feldmann H, Kawaoka Y. The Ebola virus VP40 late domains are not essential for viral replication in cell culture. **J Virol** 79:10300-10307, 2005.

Mase M, Eto M, Tanimura N, Imai K, Tsukamoto K, Horimoto T, Kawaoka Y, Yamaguchi S. Isolation of a genotypically unique H5N1 influenza virus from duck meat imported into Japan from China. **Virology** 339:101-109, 2005.

Suzuki T, Takahashi T, Guo C-T, K.I.-P. J Hidari, Miyamoto D, Goto H, Kawaoka Y, Suzuki Y. Sialidase activity of influenza A virus in an endocytic pathway enhances viral replication. **J Virol** 79: 11705-11715, 2005.

Neumann G, Fujii K, Kino Y, Kawaoka Y. An improved reverse genetics system for influenza A virus generation and its implications for vaccine production. **Proc Natl Acad Sci** 102:16825-16829, 2005.

Le QM, Kiso M, Someya K, Sakai YT, NguyenTH, Nguyen KHL, Pham ND, Ngyen HH, Yamada S, Muramoto Y, Horimoto T, Takada A, Goto H, Suzuki T, Suzuki Y, Kawaoka Y. Emergence of an oseltamivir-resistant H5N1 influenza A virus. **Nature** 437:1108, 2005.

Horimoto T, Takada A, Fujii K, Goto H, Hatta M, Watanabe S, Iwatsuki-Horimoto K, Ito M, Tagawa-Sakai Y, Yamada S, Ito H, Ito T, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Lim W, Guan Y, Peiris M, Kawaoka Y. The development and characterization of H5 influenza virus vaccines derived from a 2003 human isolate. **Vaccine** 24:3669-3676, 2006.

Muramoto Y, Ozaki H, Takada A, Park CH, Sunden Y, Umemura T, Kawaoka Y, Matsuda H, Kida H. Highly pathogenic H5N1 influenza virus causes coagulopathy in chickens. **Microbiol Immunol**

50:73-81, 2006.

Urata S, Noda T, Kawaoka Y, Yokosawa H, Yasuda J. Cellular factors required for Lassa virus budding. **J Virol** 80:4191-4195, 2006.

Watanabe S, Noda T, Kawaoka Y. Functional mapping of the nucleoprotein of Ebola virus. **J Virol** 80:3743-3751, 2006.

Muramoto Y, Takada A, Fujii K, Noda T, Iwatsuki-Horimoto K, Watanabe S, Horimoto T, Kida H, Kawaoka Y. Hierarchy among vRNA segments in their role in vRNA incorporation into influenza A virions. **J Virol** 80:2318-25, 2006.

Bär S, Takada A, Kawaoka Y, Alizon M. Detection of cell-cell fusion mediated by the Ebola virus glycoproteins. **J Virol** 80:2815-22, 2006.

Iwatsuki-Horimoto K, Horimoto T, Noda T, Kiso M, Maeda J, Watanabe S, Muramoto Y, Fujii K, Kawaoka Y. The cytoplasmic tail of the influenza A virus M2 protein plays a role in viral assembly. **J Virol** 80:5233-5240, 2006.

Chen H, Li Y, Li Z, Shi J, Shinya K, Deng G, Qi Q, Tian G, Fan S, Zhao H, Sun Y, Kawaoka Y. Properties and dissemination of H5N1 viruses isolated during an influenza outbreak in migratory waterfowl in western China. **J Virol** 80:5976-5983, 2006.

Muramoto Y, Le TQ, Phuong LS, Nguyen T, Nguyen TH, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Horimoto T, Kida H, Kawaoka Y. Molecular characterization of the hemagglutinin and neuraminidase genes of H5N1 influenza A viruses isolated from poultry in Vietnam from 2004 to 2005. **J Vet Med Sci** 68:527-531, 2006.

Kogure T, Suzuki T, Takahashi T, Miyamoto D, Hidari KI, Guo CT, Ito T, Kawaoka Y, Suzuki Y. Human trachea primary epithelial cells express both sialyl(α 2-3)Gal receptor for human parainfluenza virus type 1 and avian influenza viruses, and sialyl(α 2-6)Gal receptor for human influenza viruses. **Glycoconj J** 23:101-106, 2006.

Noda T, Sagara H, Yen A, Takada A, Kida A, Cheng RH, Kawaoka Y. Architecture of ribonucleoprotein complexes in influenza A virus particles. **Nature** 439:490-492, 2006.

Shinya K, Ebina M, Yamada S, Ono M, Kasai N, Kawaoka Y. Influenza virus receptors in the human airway. **Nature** 440:435-436, 2006.

Ebihara H, Takada A, Kobasa D, Jones S, Neumann G, Theriault S, Bray M, Feldmann H, Kawaoka Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. **PLoS Pathog** 2: 73, 2006.

Shimojima M, Takada A, Ebihara H, Neumann G, Fujioka K, Irimura T, Jones S, Feldmann H, Kawaoka Y. Tyro3 family-mediated cell entry of Ebola and Marburg viruses. **J Virol** 80: 10109-10116, 2006.

Ozawa M, Fujii K, Muramoto Y, Yamada S, Yamayoshi S, Takada A, Goto H, Horimoto T, Kawaoka Y. Contributions of two nuclear localization signals of influenza A virus nucleoprotein to viral replication. **J Virol** (in press).

Noda T, Ebihara H, Muramoto Y, Fujii K, Takada A, Sagara H, Kim JH, Kida H, Feldmann H, Kawaoka Y. Assembly and budding of Ebolavirus. **PLoS Pathog** 2:864-872, 2006.

Takada A, Ebihara H, Jones S, Feldmann H, Kawaoka Y. Protective efficacy of neutralizing antibodies against Ebola virus infection. **Vaccine** (in press).

Yamada S, Suzuki Y, Suzuki T, Le MQ, Nidom CA, Sakai-Tagawa Y, Muramoto Y, Ito M, Kiso M, Horimoto T, Shinya K, Sawada T, Kiso K, Usui T, Murata T, Lin Y, Hay A, Haire LF, Stevens DJ, Russell RJ, Gamblin SJ, Skehel JJ, Kawaoka Y. Hemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. **Nature** (in press).

Kobasa D, Jones SM, Shinya K, Kash JC, Copps J, Ebihara H, Hatta Y, Kim JH, Halfmann P, Hatta M, Feldmann F, Alimonti JB, Fernando L, Li Y, Katze MG, Feldmann H, Kawaoka Y. Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus. **Nature** (in press).

(2)その他の著作物(総説、書籍などを記載してください。)

Neumann G, Kawaoka Y. Generation of influenza A virus from cloned cDNAs - historical perspective and outlook for the new millennium. **Rev Med Virol** 12:13-30, 2002.

Neumann G, Kawaoka Y. Synthesis of influenza virus: new impetus from an old enzyme, RNA polymerase I. **Virus Res** 82:153-158, 2002.

Hatta M, Kawaoka Y. Continued pandemic threat posed by avian influenza A viruses in Hong Kong. **Trends Microbiol** 10:340-344, 2002.

Neumann G, Whitt MA, Kawaoka Y. A decade after the generation of a negative-sense RNA virus from cloned cDNA - what have we learned? **J Gen Virol** 83:2635-2662, 2002.

前田潤子、河岡義裕「インフルエンザウイルス研究の新たなアプローチ～リバーシ・ジェネティクスとその応用例～」**化学療法の領域** 18(12):26-31, 2002

堀本泰介、八田正人、河岡義裕「香港トリインフルエンザ事情」**インフルエンザ** 3:64-67, 2002

堀本泰介、河岡義裕「インフルエンザ制圧をめざして」**臨床とウイルス** 30: 139-146, 2002.

堀本泰介、五藤秀男、高田礼人、河岡義裕「ウイルスの病原性発現における糖タンパク質の役割」**Molecular Medicine** 臨時増刊号「免疫 2003」39:212-226, 2002

堀本泰介、河岡義裕「インフルエンザの流行学：新型インフルエンザの襲来はあるか？」**臨床と研究** 79(12):97-102, 2002

白石京子、五藤秀男、河岡義裕「抗インフルエンザ治療の問題点—理論的考察」**インフルエンザ** 3:52-59, 2002.

白石京子、河岡義裕「新しい抗インフルエンザ薬」**Medical Practice**, 19: 1869-1871, 2002.

白石京子、河岡義裕「インフルエンザ治療薬とその作用機構」**感染症**, 32: 2002.

藤井豊、河岡義裕「インフルエンザウイルス・ゲノムのパッケージング」**ウイルス**、52:203-206, 2002.

八田正人、河岡義裕「香港H5N1 インフルエンザウイルスはなぜヒトの命を奪うことが出来たのか？」(Pathogenesis of H5N1 influenza A virus isolated in Hong Kong), **実験医学**, 2002.

八田正人、河岡義裕「香港H5N1 インフルエンザウイルスの病原性 - なぜトリインフルエンザウイルスがヒトを襲ったのか？」- (Pathogenesis of H5N1 influenza A virus isolated in Hong Kong), **細胞工学**, 2002.

白石京子、河岡義裕「抗インフルエンザウイルス薬開発」、**MEDICAL BRIEFS IN VIRUS INFECTION**、13(4) :70-71 2002.

河岡義裕、八田正人「香港H5N1 インフルエンザウイルスは、どのようなメカニズムで人を殺すような病原性を獲得したのか？」**日本獣医学会 家禽疾病学分科会報**、No. 7 : 7-11 2002.

Neumann G, Hatta M, Kawaoka Y. Reverse genetics for the control of avian influenza. **Avian Dis** 47(3 Suppl):882-887, 2003.

Takada A, Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of viral infection: molecular mechanisms and in vivo implications. **Rev Med Virol** 13:387-398, 2003.

藤井豊、河岡義裕「インフルエンザウイルス：ゲノム RNA のパッケージング」**細胞工学** 22(4) 438-439, 2003

堀本泰介、河岡義裕「各論 I 感染症：インフルエンザ」**分子予防環境医学** 187-198, 2003

堀本泰介、河岡義裕「インフルエンザウイルスの性状」**Phama Medica** vol. 21, No. 11 17-21, 2003

河岡義裕「特集にあたって」**Phama Medica** vol. 21, No. 11 13-14, 2003

藤井豊、渡辺登喜子、堀本泰介、河岡義裕「インフルエンザウイルスゲノムパッケージングの謎」**蛋白質核酸酵素** 48(10):1357-1363, 2003

前田寧子、堀本泰介、河岡義裕「インフルエンザウイルスの型別分類とゲノム構造」**日本臨床** vol. 61, No. 11 1886-1891, 2003

岩附(堀本)研子、河岡義裕「インフルエンザウイルスの流行と病原性」**Mebio** vol. 20 No. 11 63-68, 2003

Neumann G, Noda T, Takada A, Jasenosky LD, Kawaoka Y. Roles of filovirus matrix- and glycoproteins in the viral life cycle. In: **Ebola and Marburg Viruses: Molecular and Cellular Biology**, Feldmann and Klenk, Eds., Horizon Bioscience, Wymondham, U.K. pp 137-179, 2004.

Neumann G, Kawaoka, Y. Reverse genetics systems for the generation of segmented negative-sense

RNA viruses entirely from cloned cDNA, In: **Biology of Negative Strand RNA Viruses: The Power of Reverse Genetics**, Kawaoka ed., Springer, London, UK. Curr Top Microbiol Immunol 283:43-60, 2004.

Neumann G, Brownlee G, Fodor E, Kawaoka Y., Orthomyxovirus replication, transcription, and polyadenylation In: **Biology of Negative Strand RNA Viruses: The Power of Reverse Genetics**, Kawaoka ed., Springer, London, UK. Curr Top Microbiol Immunol 283:121-143, 2004.

Jasenosky LD, Kawaoka Y. Filovirus budding. **Virus Res** 106:181-188, 2004.

畠山修司、河岡義裕 H5N1「インフルエンザウイルスの脅威」**ファルマシア** vol. 40 No. 5 430-434, 2004

畠山修司、河岡義裕「エマージングウイルス」**分子細胞治療** vol. 3 no. 1 143-145, 2004

高田礼人、河岡義裕「エボラウイルス感染における抗体依存症感染増強現象」 **医学のあゆみ** vol. 208 No. 4, 222-223, 2004

木曾真紀、河岡義裕「小児におけるアマンタジン耐性ウイルス出現状況」**インフルエンザ** Vol. 5 No. 4(2004-10), 60(342)-64(346), 2004.

木曾真紀、三田村敬子、坂井（田川）優子、白石京子、川上千春、木村和弘、菅谷憲夫、河岡義裕「小児におけるオセルタミビル耐性ウイルス」**化学療法の領域** Vol. 20 No. 12 95(1867)-98(1870), 2004.

坂井（田川）優子、河岡義裕「抗ウイルス薬に対するインフルエンザウイルスの耐性とメカニズム」**ウイルスレポート** 31-37, 2004

藤井健、河岡義裕「インフルエンザウイルスのゲノム解析」**ゲノム医学** Vol. 4 No. 5 561-567, 2004.

藤井健、河岡義裕「インフルエンザ分類と鳥インフルエンザ ―インフルエンザウイルス事始め―」**診断と治療** Vol. 92 No. 12 2227-2232, 2004.

野田岳志、喜田宏、河岡義裕「ゲノムパッケージングを視る」**実験医学** Vol. 22 No. 16 2275-2279, 2004.

根路銘国昭、杉田繁夫、堀本泰介、河岡義裕「インフルエンザワクチン―高品質化への奇跡」 **臨床検査** 48(4):458-470

堀本泰介、河岡義裕「インフルエンザワクチン：何が求められるか？」**細胞工学** Vol. 23 No. 7 780-784, 2004

村本裕紀子、河岡義裕「鳥インフルエンザの基礎知識」**飼料** Vol. 74 4-8, 2004.

村本裕紀子、喜田宏、河岡義裕「インフルエンザウイルスの病原性の分子基盤」**化学療法の領域** Vol. 20 No. 11 1663-1667, 2004

野田岳志、喜田宏、河岡義裕「インフルエンザウイルス粒子形成過程の解析―ゲノムパッ

ケーシングのメカニズム」 **化学療法の領域** Vol. 20 No. 11, 1638-1688, 2004.

藤井健、堀本泰介、河岡義裕 「インフルエンザウイルスのリバーシ・ジェネティクス～インフルエンザウイルス研究の夜明け～」 **化学療法の領域** Vol. 20 No. 11 1675-1681, 2004.

Matrosovich MN, Klenk, HD, Kawaoka Y. Receptor specificity, host-range, and pathogenicity of influenza viruses. In: **Influenza Virology Current Topics**, Kawaoka ed., Horison press. p.95-137, 2005

Ebihara H, Groseth A, Neumann G, Kawaoka Y, Feldmann H. The role of reverse genetics systems in studying viral hemorrhagic fevers. **Thromb Haemost**, 94:240-253, 2005.

Parrish C, Kawaoka Y. The origins of new pandemic viruses: the acquisition of new host ranges by canine parvovirus and influenza A viruses. **Annu. Rev. Microbiol** 59:553-86, 2005.

Kawaoka Y. How Ebola virus infects cells. **New Eng J Med** 352:2645-2646, 2005.

Horimoto T, Kawaoka Y. Influenza: Lessons from past pandemics, warnings from current incidents. **Nature Rev Microbiol** 8:591-600, 2005.

高田礼人、河岡義裕 「フィロウィルスの細胞への侵入」 **細胞工学** Vol. 24, 141-144, 2005

木曾真紀、河岡義裕 「薬剤耐性インフルエンザウイルス」 **インフルエンザ** Vol. 6 No. 1 (2005-1) 21 (21)-26 (26), 2005

畠山修司、河岡義裕 「特集：インフルエンザ基礎・臨床研究の最新動向ーインフルエンザウイルスの薬剤耐性獲得機序と耐性ウイルスの現状」 **日本臨床** 64(10):1845-1852, 2006

堀本泰介、「パンデミックウイルス出現の分子基盤」 **インフルエンザ** 7(3): 21-27, 2006.

堀本泰介、河岡義裕 「H5N1 高病原性鳥インフルエンザ：背景と現状」 **Virus Report** 3(1): 32-39. 2006

堀本泰介「鳥インフルエンザウイルスの病原性と制御」 **日中医学** 20(5): 30-39, 2006.

堀本泰介「インフルエンザウイルスの感染性を決定する宿主由来の蛋白質分解酵素」 **インフルエンザ** 7(4): 54-58, 2006.

村本 裕紀子、野田 岳志、河岡 義裕 「インフルエンザウイルスの選択的ゲノムパッケージング機構」 **蛋白質核酸酵素** 第 51 巻 pp. 1596-1601. 2006

村本 裕紀子、河岡 義裕 「高病原性 H5N1 鳥インフルエンザー新たな知見」 **Pharma Medica** 第 24 巻 pp. 9-13. 2006

野田岳志、喜田宏、河岡義裕 「A 型インフルエンザウイルス粒子は 8 本のウイルスゲノムを選択的に取り込む」 **細胞工学** 25 巻 3 号 p. 270-271, 2006.

野田岳志、河岡義裕 「インフルエンザウイルスの型別分類と構造」 **日本臨床** 64 巻 10 号 p. 1766-1769, 2006.

新矢恭子、河岡義裕「インフルエンザ対策と基礎研究 ヒト体内におけるインフルエンザウイルスのレセプター分布」**ウイルス** Vol. 56 No. 1 (2006-6), 85-86, 2006.

新矢恭子、河岡義裕「「基礎」スペインかぜウイルス」**インフルエンザ** Vol. 7 No. 4 (2006-10), 2006

(3)学会発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)
 ≪発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等≫

月日	発表者(所属)	タイトル	学会名	場所
H14. 4. 11	河岡義裕(東大医科研)	インフルエンザ: 最近の知見	第 76 回日本感染症学会総会	東京
H14. 4. 14	河岡義裕(東大医科研)	Future Role of Virus Rescue on Avian Influenza Research	Fifth International Symposium in Avian Influenza, Session	U.S.A.
H14. 4. 20	河岡義裕(東大医科研)	インフルエンザウイルスー最近の知見	第 105 回日本小児科学会学術集会	名古屋
H14. 4. 20	五藤秀男(東大医科研)	NA の持つ赤血球吸着活性の生物学的重要性の検討	第 17 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム	淡路島
H14. 4. 20	前田寧子(東大医科研)	インフルエンザウイルス蛋白質発現量と kozak の法則	第 17 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム	淡路島
H14. 4. 26	河岡義裕(東大医科研)	Influenza Virus	Triangle Virology Association Symposium	U.S.A.
H14. 5. 15	河岡義裕(東大医科研)	Avian Influenza	2002 NBI Technical Symposium	東京
H14. 5. 25	河岡義裕(東大医科研)	Molecular aspects of emerging viral infections	Singapore-Japan Symposium in Biomedical Sciences from Academia to Industry Genomic Medicine	Singapore
H14. 6. 4	河岡義裕(東大医科研)	Packaging of the influenza viral genome	IUBMB Symposium on Genome Replication of RNA Viruses	Finland

H14. 7. 27	河岡義裕（東大医科研）	MOLECULAR ASPECTS OF EMERGING NEGATIVE STANDARD RNA VIRUSES	X II th International Congress of Virology	France
H14. 7. 27	五藤秀男（東大医科研）	Generation of Influenza A virus by transfection of ‘transcription DNA fragments’	X II th International Congress of Virology	France
H14. 7. 30	藤井健（東大医科研）	The role of the influenza virus NS coding sequence in foreign gene expression	X II th International Congress of Virology	France
H14. 7. 30	野田岳志（東大医科研）	Ebola virus VP40 drives the formation of virus-like filamentous particles along with GP	X II th International Congress of Virology	France
H14. 7. 30	高田礼人（東大医科研）	Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection	X II th International Congress of Virology	France
H14. 7. 30	堀本研子（東大医科研）	Generation of influenza A virus NS2 mutants with altered nuclear export signal sequence	X II th International Congress of Virology	France
H14. 8. 10	河岡義裕（東大医科研）	Molecular aspects of emerging negative-standard RNA viruses	2002 FASEB Summer Research Conferences	U.S.A.
H14. 8. 17	高田礼人（東大医科研）	A MECHANISM OF ANTIBODY-DEPENDENT ENHANCEMENT OF EBOLA VIRUS INFECTION	第 3 6 回日米合同ウイルス性疾患専門部会	松本
H14. 8. 22	河岡義裕（東大医科研）	インフルエンザ：最近の知見	高遠シンポジウム	長野
H14. 9. 8	河岡義裕（東大医科研）	インフルエンザウイルス	第 32 回日本小児科学会セミナー	札幌
H14. 9. 17	河岡義裕（東大医科研）	Influenza: Recent Advances	Department of Microbiology, University of Minnesota	U.S.A.
H14. 9. 19	五藤秀男（東大医科研）	A 型インフルエンザウイルスのポストゲノム研究の新時代	第 134 回日本獣医学会	岐阜

H14. 9. 19	高田礼人 (東大医科研)	エボラウイルスの糖蛋白質と病原性	第 134 回日本獣医学会	岐阜
H14. 9. 26	河岡義裕 (東大医科研)	Influenza: Recent Advances	Department of Microbiology, University of Texas Health Science Center	U.S.A.
H14. 10. 17	渡辺登喜子 (東大医科研)	インフルエンザウイルス・クッキングー半生ワクチンのレシピ	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	野田岳志 (東大医科研)	インフルエンザウイルス RNP のパッケージングを視る	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	藤井健 (東大医科研)	インフルエンザウイルスの NS RNA 分節の翻訳領域はパッケージングに重要である	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	五藤秀男 (東大医科研)	A 型インフルエンザウイルスノイラミニダーゼ (NA) のプラスミノージェン活性化に必要な構造	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	高田礼人 (東大医科研)	エボラウイルスに対する中和抗体のエピトープの同定と受動免疫の感染防御効果	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	村本裕紀子 (東大医科研)	強毒インフルエンザウイルスの病原性に血管内血液凝固が関与する	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	堀本研子 (東大医科研)	A 型インフルエンザウイルス粒子への M vRNA 分節の取り込み機構	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	堀本泰介 (東大医科研)	HA 組み換えインフルエンザウイルスの構築	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 17	河岡義裕 (東大医科研)	Molecular Aspect of Emerging Negative Strand RNA Viruses	第 50 回日本ウイルス学会	札幌
H14. 10. 20	河岡義裕 (東大医科研)	Influenza pathogenesis	The first European Influenza Conference	マルタ島
H14. 10. 30	河岡義裕 (東大医科研)	Influenza enigmas	7th International Conference Emerging Infectious Diseases in	中国

			the Pacific Rim	
H14. 11. 12	河岡義裕(東大医科研)	Influenza: Recent Advances	International Symposium in Commemoration of the 150th Birthday of Dr. Shibasaburo Kitasato 7th Robert Koch Institute-Kitasato Institute Joint Symposium	東京
H14. 12. 5	河岡義裕(東大医科研)	Mechanisms of Influenza Virus Virulence	V International Symposium on Respiratory Viral Infections	ドミニカ共和国
H15. 1. 8	河岡義裕(東大医科研)	Enigmas of influenza	US-Japan collaborative medical science program, acute respiratory infections panel	横浜
H15. 2. 19	河岡義裕(東大医科研)	Influenza enigmas	4th Forum on infectious diseases	大阪
H15. 3. 7	河岡義裕(東大医科研)	Enigmas of influenza	Annual Dutch Virology Symposium	オランダ
H15. 3. 13	河岡義裕(東大医科研)	Enigmas of influenza	Harvard Medical School	U.S.A.
H15. 3. 24	河岡義裕(東大医科研)	Influenza enigmas	Options for the control of zoonoses	札幌
H15. 3. 27	河岡義裕(東大医科研)	インフルエンザの謎	順天堂大学医学部	東京
H15. 3. 31	野田岳志(東大医科研)	インフルエンザウイルスのパッケージングを視る	第135回日本獣医学会学術集会	東京
H15. 3. 31	村本裕紀子(東大医科研)	強毒インフルエンザウイルスは血液凝固不全を引き起こす	第135回日本獣医学会学術集会	東京
H15. 3. 31	前田寧子(東大医科研)	A型インフルエンザウイルス蛋白質発現において、コザック則は重要性か？	第135回日本獣医学会学術集会	東京

H15. 3. 31	堀本研子(東大医科研)	A 型インフルエンザウイルスの NS2 蛋白質に存在する NES 様配列の機能解析	第 135 回日本獣医学会学術集会	東京
H15. 3. 31	前田潤子(東大医科研)	A 型インフルエンザウイルス粒子への M vRNA 分節の取り込み機構	第 135 回日本獣医学会学術集会	東京
H15. 4. 5	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザウイルス	第 26 回日本医学会総会	福岡
H15. 5. 19	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of influenza	Viruses & Cells	ITALY
H15. 5. 31	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザの病原性	第 50 回日本実験動物学会総会	埼玉
H15. 6. 15	河岡義裕 (東大医科研)	Packaging Mechanism of influenza viral RNA	Negative Strand Viruses 2003	ITALY
H15. 6. 15	堀本泰介 (東大医科研)	Generation of influenza A viruses with chimeric(type A/B) hemagglutinins	Negative Strand Viruses 2003	ITALY
H15. 6. 15	五藤秀男 (東大医科研)	Additional processes exist that affect HA cleavage by a plasminogen-activating NA	Negative Strand Viruses 2003	ITALY
H15. 6. 15	堀本研子 (東大医科研)	Difference in receptor Binding between the index H5N1 human Isolate from 1997 and A virulent avian influenza virus	Negative Strand Viruses 2003	ITALY
H15. 6. 15	野田岳志 (東大医科研)	Close-up of influenza A virus RNPs	Negative Strand Viruses 2003	ITALY
H15. 7. 16	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザの謎	動物衛生研究所:人獣共通感染症談話会	つくば
H15. 7. 19	高田礼人 (東大医科研)	Epitopes on ebola virus glycoprotein	X X X VII Annual Meeting of the USA-JAPAN Cooperative Medical Science Program	USA
H15. 8. 21	五藤秀男 (東大医科研)	A loss of the Oligosaccharide chain in the NA is not a definitive factor for plasminogen-meiated HA cleavage	2nd Orthomyxoviruses Research Conference	USA
H15. 8. 23	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザ最近の知見	第 10 回ヘルペス感染症フォーラム	東京

H15. 8. 27	堀本泰介 (東大医科研)	Generation of influenza A viruses with chimeric(type A/B) hemagglutinins	第3回あわじしま感染症・免疫フォーラム	淡路島
H15. 8. 27	高田礼人 (東大医科研)	A human macrophage C-type lectin specific for galactose/N-acetylgalactosamine Promotes filovirus entry	第3回あわじしま感染症・免疫フォーラム	淡路島
H15. 10. 10	堀本泰介 (東大医科研)	Potential for use of influenza A viruses with chimeric(type A/B) hemagglutinins as vaccines	Options for the Control of influenza V	沖縄
H15. 10. 10	高田礼人 (東大医科研)	Intranasal immunization with formalin-inactivated virus vaccine induces A broad spectrum of heterosubtypic immunity against influenza virus infection in mice	Options for the Control of influenza V	沖縄
H15. 10. 16	高田礼人 (東大医科研)	Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection	第76回日本生化学会大会	横浜
H15. 10. 29	堀本泰介 (東大医科研)	9 本鎖インフルエンザウイルスベクター	第51回日本ウイルス学会総会	京都
H15. 10. 29	五藤秀男 (東大医科研)	A 型インフルエンザノイラミニダーゼの新規機能に関する研究	第51回日本ウイルス学会総会	京都
H15. 10. 29	高田礼人 (東大医科研)	エボラウイルスの感染初期過程:抗体およびレクチンによる感染性増強現象	第51回日本ウイルス学会総会	京都
H15. 10. 29	村本裕紀子 (東大医科研)	インフルエンザウイルス PB2 遺伝子分節のパッケージングと粒子形成に及ぼす影響	第51回日本ウイルス学会総会	京都
H15. 10. 29	藤井 健 (東大医科研)	2003 年にヒトから分離された H5N1 インフルエンザウイルスの弱毒改変型 HA をもつ組換えワクチン候補株の作出	第51回日本ウイルス学会総会	京都
H15. 12. 5	河岡義裕 (東大医科研)	エマージングウイルスの謎	大阪大学微生物病研究所学術講演会	大阪
H15. 12. 11	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザウイルス核蛋白質複合体の構造	第26回日本分子生物学会	神戸
H15. 2. 12	堀本研子	A 型インフルエンザウ	第2回感染症若手	沖縄

	(東大医科研)	イルス NS2 (NEP) 蛋白質の NES 配列の機能解析	研究者沖縄フォーラム	
H15. 2. 13	野田岳志 (東大医科研)	エボラウイルス・ヌクレオカプシド形成機構	第 2 回感染症若手研究者沖縄フォーラム	沖縄
H15. 2. 13	村本裕紀子 (東大医科研)	A 型インフルエンザウイルス PB2, PB1 および PA 遺伝子分節のパッケージングと粒子形成への関与	第 2 回感染症若手研究者沖縄フォーラム	沖縄
16. 4. 6	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザ	日本感染症学会	東京
16. 6. 4	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザ:最近の話題	第 52 回日本化学療法学会	沖縄
16. 6. 8	河岡義裕 (東大医科研)	Why Influenza kills...and will kill again	The Scripps Research Institute	U.S.A.
16. 6. 10	野田岳志 (東大医科研)	Formation of nucleocapsid-like structures of Ebola virus	8th Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy	金沢
16. 6. 17	野田岳志 (東大医科研)	エボラウイルス・ヌクレオカプシドのアセンブリー	第 1 回ウイルス学キャンプ	静岡
16. 7. 11	海老原秀喜 (東大医科研)	Genetic determinants of mouse-adaptation of Ebola Zaire virus	23rd Annual Meeting The American Society Of Virology	U.S.A.
16. 8. 10	野田岳志 (東大医科研)	Formation of nucleocapsid-like structures of Ebola virus	Fuji Forum 2004	静岡
16. 8. 18	河岡義裕 (東大医科研)	Why Influenza kills...and will kill again	WHO Animal Influenza training course	札幌
16. 8. 30	村本裕紀子 (東大医科研)	Identification of the regions for Virion incorporation of PB2,PB1 and PA vRNA segments of Influenza A virus.	The Awaji International Forum an Infection and Immunity	淡路島
16. 8. 30	高田礼人 (東大医科研)	Genetic determinants of mouse-Adaptation of Ebola Zaire virus	The Awaji International Forum an Infection and Immunity	淡路島
16. 9. 11	堀本研子 (東大医科研)	インフルエンザウイルス M2	第 138 回日本獣医学会学術集会	札幌

		蛋白質の細胞質領域と ウイルス 粒子形成		
16. . 9. 11	山田晋弥 (東大医科研)	H5N1 インフルエンザウ イルス 山口株の弱毒改変型 HA をもつ ワクチンの化血研 VERO 細胞を用いての試作	第 138 回日本獣医 学会学術集会	札幌
16. 10. 14	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザ:その制 圧は?	第 77 回日本生化学 学会	横浜
16. 10. 16	河岡義裕 (東大医科研)	新型インフルエンザウ イルス	第 45 回熱帯医学会 大会	東京
16. 10. 18	河岡義裕 (東大医科研)	Influenza Pathogenesis	第 1 回中日鳥イン フルエンザシンポ ジウム	北京
16. 10. 30	河岡義裕 (東大医科研)	Why Influenza kills...and will kill again	44th ICAAC	U.S.A.
16. 11. 12	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザ:最近の 話題	第 36 回日本小児 感染症学会総会	東京
16. 11. 4	河岡義裕 (東大医科研)	Why Influenza kills...and will kill again	INSTRUM SYMPOSIUM	オランダ
16. 11. 21	堀本研子 (東大医科研)	インフルエンザウイル ス M2 蛋白質の細胞質領域と ウイルス 粒子形成	第 52 回日本ウイル ス学会	横浜
16. 11. 21	高田礼人 (東大医科研)	エボラウイルスの抗体 依存性感染増強現象と エピトープ	第 52 回日本ウイル ス学会	横浜
16. 11. 22	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザウイル スの謎	第 52 回日本ウイル ス学会	横浜
16. 11. 22	木曾真紀 (東大医科研)	小児におけるオセルタ ミビル耐性インフルエ ンザウイルスの出現	第 52 回日本ウイル ス学会	横浜
16. 12. 2	河岡義裕 (東大医科研)	Why Influenza kills...and will kill again	第 34 回日本免疫学 会	札幌
16. 12. 7	高田礼人 (東大医科研)	A Human Macrophage C-type Lectin Specific for Galactose/ N-Acetylgalactosamine Promotes Filovirus Entry	Foreign Anniversary Report US-Japan Cooperative Medical Science Program, Kyoto	京都
16. 12. 8	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of Emerging Viral	Foreign Anniversary	京都

		Infectious	Report US-Japan Cooperative Medical Science Program, Kyoto	
16. 12. 10	河岡義裕 (東大医科研)	Why Influenza kills...and will kill again	日米国際新興・再興感染症会議	京都
16. 12. 10	藤井健 (東大医科研)	インフルエンザウイルスのゲノムパッケージングに必要な塩基配列	第 27 回日本分子生物学会	神戸
16. 12. 11	河岡義裕 (東大医科研)	インフルエンザウイルスの謎	第 27 回日本分子生物学会	神戸
17. 1. 15	河岡義裕 (東大医科研)	Influenza Pathogenesis	15th Challenge in Virology	スイス
17. 4. 29	河岡義裕 (東大医科研)	Emigmas of Emerging Viruses	北京 UT フォーラム 2005	北京
17. 5. 15	河岡義裕 (東大医科研)	Formation,trafficking, and virion incorporation of Ebola virus nucleocapsid-like structures	German-Japanese Symposium on Emerging and Reemerging Viruses	富山
17. 5. 19	河岡義裕 (東大医科研)	エマージングウイルスの病原性	第 5 2 回日本実験動物学会	東京
17. 5. 30	河岡義裕 (東大医科研)	Influenza : a continuing threat for catastrophe	3rd European Meeting on Viral Zoonosis	フランス
17. 6. 20	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of emerging viruses	2005 Annual Meeting of the American Society for Virology	U.S.A.
17. 7. 19	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of emerging viral infections	Molecular Bases Underlying microbial Infections and The Host Responses 2005	U.S.A.
17. 7. 23	山吉誠也 (東大医科研)	A FLAG and HA tandem epitope-tagged system for analyzing viral/host protein interactions	国際ウイルス学会	U.S.A.
17. 7. 23	高田礼人 (東大医科研)	Protective efficacy of neutralizing antibodies against Ebola virus infection	国際ウイルス学会	U.S.A.
17. 7. 23	野田岳志 (東大医科研)	Formation, trafficking, and virion incorporation of Ebola virus nucleocapsid-like structures	国際ウイルス学会	U.S.A.
17. 7. 23	藤井健 (東大医科研)	Are Specific Nucleotides Required for Influenza	国際ウイルス学会	U.S.A.

		Viral Genome Incorporation into Virions?		
17. 7. 23	五藤秀男 (東大医科研)	The structures formed by both the non-coding and coding regions of influenza A virus NP segment are important for virus replication	国際ウイルス学会	U.S.A.
17. 7. 23	村本裕紀子 (東大医科研)	The importance of the coding regions of the influenza virus polymerase genes for virion incorporation.	国際ウイルス学会	U.S.A.
17. 7. 23	岩附研子 (東大医科研)	The cytoplasmic tail of the influenza A virus M2 protein plays a role in viral assembly	国際ウイルス学会	U.S.A.
17. 7. 23	木曾真紀 (東大医科研)	Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir.	国際ウイルス学会	U.S.A.
17. 9. 11	河岡義裕 (東大医科研)	Host range restriction of influenza virus	The Second European Influenza Conference	マルタ
17. 10. 28	河岡義裕 (東大医科研)	Avian influenza	Symposium on Infectious Diseases, the Netherlands Diplomatic and Consular Representation in Japan.	東京
17. 10. 28	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of influenza viruses	The 18th Naito Conference on Innate Immunity in Medicine and Biology [II]	神奈川
17. 11. 18	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of emerging viruses.	RNA Viruses Shuttling between Animal and Man	ドイツ
17. 11. 20	山吉誠也 (東大医科研)	エボラウイルス VP40 蛋白質と相互作用する宿主蛋白質	日本ウイルス学会	横浜
17. 11. 20	堀本泰介 (東大医科研)	インフルエンザ不活化ワクチンの製造基材である発育鶏卵でよく増殖する H5N1 ワクチンシードウイルス候補株の作出	日本ウイルス学会	横浜
17. 11. 20	藤井健	A 型インフルエンザウイルス NP 蛋白質の核内における動態	日本ウイルス学会	横浜

17. 12. 8	下島昌幸 (東大医科研)	ウイルスと細胞のふれあい	日本分子生物学会 年会	福岡
17. 12. 8	藤井健 (東大医科研)	A 型インフルエンザウイルス NP 蛋白質の核内局在と細胞性因子との相互作用の解析	日本分子生物学会 年会	福岡
17. 12. 20	山吉誠也 (東大医科研)	A FLAG and HA tandem epitope-tagged system for analyzing viral/host protein interactions.	2005 CAS-JSPS Asian Science Seminar	天津
18. 1. 13	山吉誠也 (東大医科研)	エボラウイルス VP40 蛋白質と相互作用する宿主蛋白質	第 4 回感染症若手研究者沖縄フォーラム	沖縄
18. 2. 6	堀本泰介 (東大医科研)	Control of H5N1 influenza virus: drug resistance and vaccine development.	第 2 回日中鳥インフルエンザシンポジウム	東京
18. 2. 20	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of influenza viruses	Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2006	東京
18. 3. 8	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of emerging viruses	6 th Human Genome Organization(HUGO) Pacific Meeting & 7 th Asia-Pacific Human Genetics Conference	台北
18. 3. 19	野田岳志 (東大医科研)	A 型インフルエンザウイルスゲノムのパッケージング機構	第 1 4 1 回日本獣医学会学術集会	つくば
18. 4. 3	河岡義裕 (東大医科研)	The role of amino acid at position 627 of PB2 of H5N1 influenza A viruses in efficient growth in cells and in animals	6th International Symposium on Avian Influenza	イギリス
18. 4. 14	堀本泰介 (東大医科研)	鳥インフルエンザウイルス: 感染のしくみと対策	第 5 回日本旅行医学会	東京
18. 4. 15	河岡義裕 (東大医科研)	エマージングウイルスの謎	東京大学生命科学シンポジウム	東京
18. 4. 21	畠山修司 (東大医科研)	ノイラミニダーゼ阻害薬耐性 B 型インフルエンザウイルスの伝播	第 8 0 回感染症学会総会	東京
18. 6. 16	野田岳志 (東大医科研)	Genome packaging of influenza A virus particles	FASEB meeting, Saxtons River	USA
18. 6. 18	野田岳志 (東大医科研)	Tyro3 family-mediated cell entry of Ebola and Marburg viruses	Negative Strand Viruses	スペイン
18. 7. 12	野田岳志 (東大医科研)	インフルエンザウイルスのゲノムパッケージ	第 3 回ウイルス学キャンプ	神奈川

		ング機構		
18. 9. 6	小澤真 (東大医科研)	Contributions of The Nuclear Localization Signals of Influenza A Virus Nucleoprotein to Viral Replication	第6回あわじしま感染症免疫フォーラム	兵庫
18. 9. 6	山吉誠也 (東大医科研)	Proline at position 53 of Ebola virus VP40 are important for VLP production	第6回あわじしま感染症免疫フォーラム	兵庫
18. 9. 18	野田岳志 (東大医科研)	Mapping of VP40-binding regions on Ebolavirus nucleoprotein	Filoviruses; An ICID global symposium	カナダ
18. 9. 18	河岡義裕 (東大医科研)	Ebola virus VP24 inhibits transcription/replication of the Ebola virus genome	Filoviruses; An ICID global symposium	カナダ
18. 9. 18	山吉誠也 (東大医科研)	Proline at position 53 of Ebola virus VP40 are important for VLP production	Filoviruses; An ICID global symposium	カナダ
18. 10. 4	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of emerging viruses	58 th DGHM	ドイツ
18. 10. 17	河岡義裕 (東大医科研)	Reverse Genetics	Influenza Vaccines for the World 2006	オーストリア
18. 10. 18	河岡義裕 (東大医科研)	Enigmas of influenza viruses	Avian Influenza and pandemic Risk	イタリア

(4)特許出願

①国内出願 (1 件)

1. 発明の名称：ウイルスベクター及びその製法

発明者：河岡義裕、藤井健

出願人：科学技術振興機構

出願日：平成15年5月14日

出願番号：特願2003-135536

②海外出願 (0 件)

(5)受賞等

①受賞

- ・1991年 日本獣医学会賞
「鳥類インフルエンザウイルスの病原性に関する分子生物学的研究」
- ・2002年 野口英世記念医学賞「エマージングウイルスの分子生物学的研究」
- ・2006年 文部科学大臣表彰 科学技術賞（研究部門）
「インフルエンザウイルス人工合成の研究」
- ・2006年 ロベルトコッホ賞「Generation of influenza virus from cloned cDNA」

②新聞報道

- ・ 2002年4月11日（読売新聞）「エボラウイルスそっくりウイルス作成」
- ・ 2002年10月21日（読売新聞）「スペインかぜウイルス再現」
- ・ 2003年1月28日（日本経済新聞、読売新聞、中国新聞）「インフルエンザウイルス増殖仕組み解明」
- ・ 2003年10月7日（読売新聞）「エボラウイルス抗体利用して増殖」
- ・ 2003年1月18日（日本経済新聞、北海道新聞）「エボラ類似ウイルス合成」
- ・ 2004年2月6日（朝日新聞）「スペイン風邪、鳥ウイルスが微小変異」
- ・ 2004年4月6日（読売新聞、日本経済新聞、神戸新聞、北海道新聞、河北新聞、中日新聞、愛媛新聞）「タミフル3割に耐性ウイルス」
- ・ 2005年2月18日（朝日新聞）「小児のB型インフルエンザ、タミフル効きにくい？」
- ・ 2005年10月15日（日本経済新聞、朝日新聞、読売新聞、毎日新聞）「ベトナム鳥インフルエンザ耐性ウイルス検出」
- ・ 2005年11月1日（日本経済新聞）「新型インフルエンザワクチン短期間で作製手法」
- ・ 2005年12月11日（朝日新聞）「タミフルについて」
- ・ 2006年1月9日（読売新聞）「インフルエンザ遺伝子変え人から人へ」
- ・ 2006年1月26日（日本経済新聞、朝日新聞、読売新聞、毎日新聞、日本産業新聞、産経新聞）「インフルエンザウイルス増殖解明」
- ・ 2006年2月12日（日本経済新聞）「インフルエンザウイルスの感染と増殖のしくみ」
- ・ 2006年2月14日（日本産業新聞）「ウイルスの病原性ーアミノ酸一つで凶暴化」
- ・ 2006年3月23日（日本経済新聞、朝日新聞、読売新聞、毎日新聞）「鳥インフルエンザ、人は肺の奥で感染」
- ・ 2006年4月21日（朝日新聞）「タミフル耐性ウイルス人への感染初確認」
- ・ 2006年11月16日（産経新聞、朝日新聞、毎日新聞）「ヒト感染の変異特定ー拡大防止、指標に」
- ・ 2007年1月18日（読売新聞、朝日新聞、毎日新聞、日本経済新聞）「スペイン風邪人工合成ー鳥インフルエンザ解明に道筋」

③その他

(6)その他特記事項

7 研究期間中の主な活動

(1)ワークショップ・シンポジウム等

年月日	場所	趣旨	内容	参加人数
H14. 4. 4	東京大学医科学研究所 ウイルス感染会議室	チーム内研究打ち合わせ（村本裕紀子）	宿主因子と病原性発揮	12名
H14. 4. 8	同上	チーム内研究打ち合わせ（渡辺登喜子）	HA _v RNA のパッケージング, M2 _v ・vRNP の相互作用	11名

H14. 5. 20	同上	情 報 交 換 （ Luke Jasenosky：ウイスコンシン大学）	ウイルスベクター開発	12 名
H14. 6. 14	同上	情 報 交 換 （ Shinji Makino: テキサス大学）	RNA ウイルスの粒子形成機構	13 名
H14. 7. 4	同上	チーム内研究打ち合わせ（木曾真紀）	抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの病原性	12 名
H14. 9. 9	同上	チーム内研究打ち合わせ（五藤秀男）	転写複製の機能プロテオミクス解析	13 名
H14. 11. 8	同上	チーム内研究打ち合わせ（藤井健）	NS2 vRNA のパッケージング	11 名
H14. 11. 15	同上	チーム内研究打ち合わせ（前田潤子，河岡義裕）	M1 蛋白質の機能解析、B 型ウイルスのスリバースジェネティクス	13 名
H14. 11. 18	同上	チーム内研究打ち合わせ（高田礼人）	C type レクチンとウイルス感染	12 名
H14. 12. 13	同上	チーム内研究打ち合わせ（河岡義裕）	研究総括：戦略検討	13 名
H14. 12. 18	同上	チーム内研究打ち合わせ（坂井（田川）優子）	抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの解析	12 名
H15. 1. 28	同上	チーム内研究打ち合わせ（藤井健）	ウイルス感染にかかわる宿主因子	12 名
H15. 3. 20	同上	チーム内研究打ち合わせ（河岡義裕）	研究総括：戦略検討	13 名
H15. 4. 2	同上	チーム内研究打合せ（五藤秀男）	インフルエンザウイルス蛋白質のプロテオーム解析について	14 名
H15. 4. 3	同上	チーム内研究打合せ（高田礼人）	エボラウイルスに対する抗体	14 名
H15. 4. 4	同上	チーム内研究打合せ（堀本泰介）	インフルエンザウイルス A/B HA キメラについて	14 名
H15. 4. 7	同上	チーム内研究打合せ（前田寧子）	WSN NA に対する抗体作製について	14 名
H15. 4. 18	同上	チーム内研究打合せ（海老原秀喜）	エボラリバースジェネティクスについて	16 名

H15. 4. 18	同上	チーム内研究打合せ (白石京子)	アマンタジン体勢インフルエンザウイルスについて	14名
H15. 4. 21	同上	チーム内研究打合せ (坂井優子、畠山修司、木曾真紀)	薬剤体勢インフルエンザウイルス出現について	14名
H15. 6. 6	同上	チーム内研究打合せ (下島昌幸)	FIV レセプター同定	14名
H15. 6. 12	同上	チーム内研究打合せ (坂内天)	ウイルスの持続感染に関与する宿主遺伝子の同定	14名
H15. 6. 12	同上	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	トリインフルエンザレセプター特異性	14名
H15. 7. 18	同上	チーム内研究打合せ (坂内天)	昆虫 cell でのプラスミド誘導について	14名
H15. 8. 29	同上	情報交換 Dr. Heinz Feldmann (カナダ科学研究所)	フィロウイルスノ疫学と病原性について	18名
H15. 8. 29	同上	情報交換 Dr. M. Buckmeyer (TSRI, USA)	ラッサ熱ウイルスの T-cell エピトープと病原性	18名
H15. 9. 6	同上	情報交換 鈴木隆(静岡県立大)	ウイルス感染と糖鎖	13名
H15. 10. 21	同上	チーム内研究打合せ (野田岳志)	エボラウイルスヌクレオカプシドの形成	14名
H15. 10. 21	同上	チーム内研究打合せ (藤井健)	NS RNA について	14名
H15. 10. 22	同上	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	ヒトとトリのウイルス分離について	14名
H15. 10. 22	同上	チーム内研究打合せ (下島昌幸)	エボラ、SARS のレセプターについて	14名
H15. 10. 23	同上	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	PB1, PB2, PA パッケージングシグナルについて	14名
H15. 10. 23	同上	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	インフルエンザウイルスの DI 粒子について	14名

H15. 10. 23	同上	チーム内研究打合せ (堀本研子)	B 型ポリメラーゼは A 型をプロモートできるか？	14 名
H15. 10. 24	同上	チーム内研究打合せ (高田礼人)	エボラワクチンの開発	14 名
H15. 10. 24	同上	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	機能プロテオミクスについて	14 名
H15. 10. 24	同上	チーム内研究打合せ (堀本泰介)	インフルエンザベクターについて	14 名
H15. 12. 15	同上	戦略検討 (河岡義裕)		15 名
H16. 3. 17	同上	研究打合せ 富田有里子 (JST 北海道)	糖脂質抗体について	16 名
16. 7. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (堀本研子)	M2 の cytoplasmic tail と粒子形成の関係を 探る	16 名
16. 7. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	インフルエンザウイルスの ゲノムパッケージング	16 名
16. 7. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (木曾真紀)	抗インフルエンザ 薬耐性ウイルス	16 名
16. 7. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (野田岳志)	ラッサウイルスおよび エボラウイルスの粒子形成 機構	16 名
16. 7. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (藤井健)	インフルエンザウイルスの 可視化	16 名
16. 7. 14	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	鳥インフルエンザウイルスの 宿主域変化に関する解析	16 名
16. 7. 14	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	インフルエンザウイルス感染細胞 におけるプラスミノーゲン 活性化機序についての考察	16 名
16. 7. 14	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (堀本泰介)	H5N1 鳥インフルエンザ ワクチン開発のための基礎研究	16 名

16. 7. 14	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (田川優子)	①ワクチン作製および分離に使用する新規細胞の紹介 ②ブタ H1N1 および日本とベトナムの H5N1 の分離	16名
16. 7. 14	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	NA(-) ウイルスの RNA 解析	16名
16. 7. 14	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (小澤真)	インフルエンザウイルスに内在する small RNA のクローニング	16名
16. 7. 15	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	エボラウイルス蛋白質のプロテオミクス	16名
16. 7. 15	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (富田有里子)	酵母を用いたインフルエンザウイルスあるいはエボラウイルスの宿主因子解析系の確立	16名
16. 11. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (小澤真)	NP セグメントのパッケージングシグナルの同定	16名
16. 11. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	エボラウイルス蛋白質のプロテオミクス	16名
16. 11. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	ラッサウイルスの Z 蛋白質に関する解析	16名
16. 11. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (木曾真紀)	抗インフルエンザ薬耐性ウイルス	16名
16. 11. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	インフルエンザウイルスの病原性に関与する宿主因子の解析	16名
16. 11. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (堀本研子)	インフルエンザウイルス M2 蛋白質の細胞質領域とウイルス粒子形成	16名
16. 11. 11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (藤井健)	NS セグメントのパッケージング・シグナル-織り込まれた秩序を求めて-	16名

16. 11. 11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (富田有里子)	酵母を用いたインフル エンザウイルスあ るいはエボラウイル スの宿主因子解析系 の確立	16名
16. 11. 11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	HA (ー) ウイルスの RNA 解析	16名
16. 11. 11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (田川優子)	ベトナム H5N1 の分離 と塩基配列解析	16名
16. 11. 11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (高田礼人)	タイ出張報告など	16名
16. 11. 11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	インフルエンザウイル ス R N P の人為的 な細胞内構築による インターフェロン β の誘導	16名
17. 2. 23	大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (小澤真)	セグメントの種類と 粒子内部のドット数 の関係	18名
17. 2. 23	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (藤井健)	Characterization of the Incorporation Signal for the NS Segment of Influenza Virus	18名
17. 2. 23	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	エボラウイルス蛋白 質のプロテオミクス	18名
17. 2. 23	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	①ラッサウイルスの Z 蛋白質に関する解 析②2004年にヒ トから分離されたH 5 ウイルスの H A に 関する解析	18名
17. 2. 23	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (木曾真紀)	抗インフルエンザ 薬耐性ウイルス	18名
17. 2. 23	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (野田岳志)	Ebola VLP 作製系の改 良、ラッサウイルス Z 蛋白質の性状	18名
17. 3. 3	東京大学医科学研究所 総合研究棟 会議室	セミナー (JICA 乾健二郎)	ベトナムトリインフ ルエンザ事情	23名

17.3.8	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング	18名
17.3.8	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (富田有里子)	酵母を用いたインフルエンザウイルスあるいはエボラウイルスの宿主因子解析系の確立	18名
17.5.2	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (角川学士)	インフルエンザウイルスPB2アミノ酸627番に相互作用する宿主因子の探索	14名
17.5.2	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	エボラウイルス蛋白質のプロテオミクス	14名
17.5.2	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (野田岳志)	エボラウイルスVP40とNPの相互作用	14名
17.5.2	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (小澤真)	NP及びMセグメントパッケージングシグナルの応用	14名
17.5.2	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	H5N1インフルエンザウイルスのヒト型レセプターの認識に關与する変異	14名
17.5.11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (木曾真紀)	オセルタミビル耐性H5N1インフルエンザウイルス	16名
17.5.11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (岩附研子)	インフルエンザウイルスM2蛋白質の細胞質領域と粒子形成	16名
17.5.11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (坂井優子)	ベトナムH5N1ウイルスの分離／韓国ブタからのウイルス分離	16名
17.5.11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	インフルエンザウイルスゲノムパッケージングNPセグメントをモデルとした考察	16名
17.5.11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	虫歯実験～虫歯のある人は風邪をひきにくいのか？～	16名
17.5.11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (下島昌幸)	エボラウイルスの受容体について	16名

17. 5. 11	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング	16名
17. 9. 9	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (角川学士)	インフルエンザウイルスポリミラーゼPB2アミノ酸627番に相互作用する宿主タンパク質	18名
17. 9. 9	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	VP40とSec24Cの蜜月	18名
17. 9. 9	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (野田岳志)	ラッサウイルスGタンパク質のウイルス粒子内への取り込み	18名
17. 9. 15	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	インフルエンザウイルスゲノムパッケージングNPセグメントをモデルとした考察	18名
17. 9. 15	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (小澤真)	Lumio tag 標識ウイルス	18名
17. 10. 21	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	ベトナムで分離されたH5N1鳥インフルエンザウイルスの遺伝子系統解析&病原性の解析	18名
17. 10. 25	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (角川学士)	インフルエンザウイルスポリミラーゼPB2アミノ酸627番に相互作用する宿主タンパク質	18名
17. 10. 25	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (坂井優子)	エボラウイルスの受容体とニパウイルスの受容体	18名
17. 10. 25	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	エボラウイルス受容体固定進捗状況	18名
17. 10. 25	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	インフルエンザウイルスゲノムパッケージング12塩基の威力	18名
17. 10. 25	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (下島昌幸)	VP40に纏わる話	18名

17. 10. 25	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	2004年にベトナム人から分離された インフルエンザウイルスのシーケンス 解析	18名
17. 10. 25	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (角川学士)	H5N1 インフルエンザウイルスのヒト 型レセプターの認識 に關与する変異	18名
17. 10. 28	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	H5N1 ワクチン株 のサル細胞における 増殖能の変化	18名
17. 10. 28	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (野田岳志)	NP の局在変化	18名
18. 3. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	8RNPs in influenza virus particles	23名
18. 3. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (小澤真)	H5N1 組換えワク チン候補株の作製	23名
18. 3. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	Avian H5N1 influenza virus adapted to a mammalian host	23名
18. 3. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (角川学士)	フェレットにおける 薬剤耐性ウイルスの 病原性について	23名
18. 3. 10	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (坂井優子)	The cytoplasmic tail of the influenza A virus M2 protein	23名
18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	Analysis of essential residues for Ebols Virus VLP release.	23名
18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (坂井優子)	ベトナム H5N1 ウ イルスの分離及び P B2 遺伝子の解析/ インドネシア H5N 1 ウイルスの分離	23名
18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	2004年にベトナム人から分離された インフルエンザウイルスのシーケンス 解析	23名
18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (五藤秀男)	Assembly of Influenza A virus Genome Assembly is essential life	23名

18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (牧野晶子)	エボラウイルス受容 体固定進捗状況	2 3 名
18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (下島昌幸)	ラッサウイルスの細 胞侵入	2 3 名
18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	H 5 N 1 インフルエ ンザウイルスのヒト 型レセプターの認識 に關与する変異	2 3 名
18. 3. 13	東京大学医科学研究所 ウイルス感染分野 会議室	チーム内研究打合せ (小澤真)	Nucleotide Recombination between pCAGGS and pPoll	2 3 名
18. 4. 21	同上	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	ゲノムパッケージ グに関する実験計画 ーvRNA セグメント間 に相性・相互作用があ るか？	2 0 名
18. 4. 21	同上	チーム内研究打合せ (木曾真紀)	薬剤耐性インフルエン ザウイルス	
18. 4. 21	同上	チーム内研究打合せ (小澤真)	Lumio Tag 標識ウイル スのその後	
18. 4. 21	同上	チーム内研究打合せ (牧野晶子)	エボラウイルスの受 容体同定の試み	
18. 4. 21	同上	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	エボラウイルス様粒 子の放出と Sec24C 蛋 白質	
18. 5. 12	同上	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	ゲノムパッケージ グーvRNA セグメント 間に相性・相互作用が あるか？	
18. 5. 12	同上	チーム内研究打合せ (野田岳志)	ゲノムパッケージ ング再考	
18. 5. 12	同上	チーム内研究打合せ (小澤真)	Expression of influenza viral RNP by using retro	
18. 5. 12	同上	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	VP40 の Late ドメイン についての考察 viral vectors	
18. 5. 12	同上	チーム内研究打合せ (富田有里子)	hiv gag VLP 検出系の 構築	

18. 6. 15	同上	チーム内研究打合せ (小澤真)	Establishment of stable cell line expressing influenza vRNP for high-throughput drug screening	
18. 6. 15	同上	チーム内研究打合せ (高橋慧)	M224 の抗原探索および ZEB0GP54-201 との関係	
18. 6. 15	同上	チーム内研究打合せ (村上晋)	PR8/H5N16:2 reassortant ワクチンシードウイルスの増殖性について	
18. 6. 21	同上	チーム内研究打合せ (今井博貴)	H5N1 鳥インフルエンザウイルス株 HN3040 と VN1203 の相違点	
18. 6. 21	同上	チーム内研究打合せ (岩佐彩香)	リバーズジェネティクスでワクチンシードウイルスを作製	
18. 7. 22	同上	チーム内研究打合せ (富田有里子)	酵母遺伝子ライブラリーを用いた hiv gag 出芽に関する宿主因子の検索	
18. 7. 22	同上	チーム内研究打合せ (高橋慧)	M224 の抗原探索および ZEB0GP54-201 との関係	
18. 7. 22	同上	チーム内研究打合せ (角川学士)	PB2 の 627 番目アミノ酸の変異に関わるウイルスポリメラーゼ活性の宿主細胞特異性を制御する宿主細胞因子の同定	
18. 8. 11	同上	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	Genome Packaging Mechanism – Are there interactions among vRNA segments of influenza A virus ?	
18. 8. 11	同上	チーム内研究打合せ (牧野晶子)	エボラウイルスの受容体同定の試み	
18. 8. 11	同上	チーム内研究打合せ (野田岳志)	エボラウイルス NP – VP 40 の相互解析	
18. 8. 11	同上	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	ベトナムおよびインドネシアの 2005 年 H5N1 ヒト分離株のシークエンス解析	

18. 8. 11	同上	チーム内研究打合せ (坂井優子)	インドネシアからの H 5 N 1 ウイルスの 分離およびH 5 N 1 ウイルス分離条件の 解析	
18. 8. 11	同上	チーム内研究打合せ (木曾真紀)	H5N1 ウイルスの病原 性と免疫系の関与に ついて	
18. 9. 21	同上	チーム内研究打合せ (村本裕紀子)	ゲノムパッケージ グー-vRNA セグメント 間に相性・相互作用が あるか？	
18. 9. 21	同上	チーム内研究打合せ (村上晋)	MDCK におけるイス RNA polymerase I プ ロモーターを用いた リーバースジェネテ イクス	
18. 9. 21	同上	チーム内研究打合せ (高橋慧)	M224 の抗原探索およ び ZEBOP54-201 と の関係	
18. 9. 21	同上	チーム内研究打合せ (角川学士)	PB2 の 627 番目アミ ノ酸の変異に関わる ウイルスポリメラー ゼ活性の宿主細胞特 異性を制御する宿主 細胞因子の同定	
18. 10. 10	同上	チーム内研究打合せ (前田寧子)	H5N1 高病原性鳥イン フルエンザウイルス の感染に対するマウ スの CD8 陽性 T 細胞の 応答	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (伊藤睦美)	RNA 抽出キットの評価	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (小澤真)	Influenza virus expressing M2-Venus	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (岩佐彩香)	マウスから血清を採 取し、血清中の抗体価 を測定	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (村上晋)	Exploration of high growth H5N1 vaccine seed virus	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (角川学士)	PB2 の 627 番目アミ ノ酸の変異に関わる ウイルスポリメラー ゼ活性の宿主細胞特	

			異性を制御する宿主細胞因子の同定	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (山吉誠也)	About VP4 0 _ 5 2 5 3 5 5	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (富田有里子)	酵母遺伝子ライブラリーを用いた hiv gag 出芽に関する宿主因子の検索	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (今井博貴)	インフルエンザウイルス粒子内の RNP 複合体構造の解析	
18. 10. 26	同上	チーム内研究打合せ (山田晋弥)	Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human type receptors	

8 結び

本研究開始時にたてた目標のかなりの部分は達成出来たのではないかと考えています。また、本研究期間中に、H5N1 鳥インフルエンザウイルスがその勢力を拡大し、アジアのみならずヨーロッパやアフリカにも流行が広がり、パンデミックの可能性が危惧されるようになりました。このような状況をふまえ、新規ワクチンの開発、鳥インフルエンザウイルスがパンデミックを起こすように変化するメカニズムの解明に関する研究、そして薬剤耐性ウイルスの研究も行い、パンデミックの抑制に寄与するあるいはパンデミックが起こった際に有用な情報を提供できたと思っています。

上述のように、本研究期間中に H5N1 トリインフルエンザウイルスがアジアで大流行しその現状把握のため、ベトナムならびにインドネシアの研究者と共同研究することが重要となり、研究室員の海外派遣、そして海外研究者の招聘の必要が生じました。従来の研究費では対応することのできないこのような案件に関し、「免疫難病・感染症等の先進医療技術」研究事務所の方々ならびに戦略的創造研究推進事業本部の方々には、非常に柔軟に対応していただき、本当に感謝いたしております。また、高病原性ウイルスを扱うP4施設が日本では稼働していないためカナダのP4での研究を余儀なくされたが、これに関しても柔軟に対応していただき研究を効率よく円滑にすすめることができました。心から感謝いたしております。本研究期間中にある程度の成果を収めることができたと思っていますが、「免疫難病・感染症等の先進医療技術」研究事務所の方々ならびに戦略的創造研究推進事業本部支援なくしては不可能でした。惜しむらくは、5年で終了というのではなくもう少し延長していただき5年間で得られた成果をさらに発展出来ればと思いました。