

平成 29 年 5 月 31 日

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
(英語) Research Program on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases

研究開発課題名：(日本語) 粘膜免疫誘導型新規結核ワクチンの開発
(英語) Development of novel tuberculosis vaccine inducing mucosal immune responses

研究開発担当者 (日本語) 保富 康宏
国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
霊長類医科学研究センター センター長
所属 役職 氏名：(英語) Yasuhiro Yasutomi
National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition
Tsukuba Primate Research Center, Director

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

(1) 分担研究 (日本語) ワクチン効果の判定と解析
開発課題名：(英語) Analysis of vaccine effects

研究開発分担者 (日本語) 保富 康宏
国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
霊長類医科学研究センター センター長
所属 役職 氏名：(英語) Yasuhiro Yasutomi
National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition
Tsukuba Primate Research Center, Director

(2) 分担研究 (日本語) 結核菌抗原遺伝子組み込みパラインフルエンザ 2 型ウイルスの作製

開 発 課 題 名：（英 語）Generation of recombinant human parainfluenza type 2 viruses encoding
Mycobacterium tuberculosis and *Mycobacterium bovis* BCG genes.

研究開発分担者（日本語）三重大学大学院医学系研究科 感染症制御医学・分子遺伝学分野
教授・野阪哲哉

所属 役職 氏名：（英 語） Professor Tetsuya Nosaka
Department of Microbiology and Molecular Genetics, Mie University
Graduate
School of Medicine,

（３）分 担 研 究 （日本語）霊長類モデルにおける新規結核ワクチンの全身性免疫効果評価系の確立

開 発 課 題 名：（英 語）Evaluation of TB-specific responses by vaccination in NHPs

研究開発分担者 （日本語）国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
アジュバント開発プロジェクト
主任研究員
山本 拓也

所属 役職 氏名：（英 語） Takuya Yamamoto, Laboratory of Adjuvant Innovation
National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

（４）分 担 研 究 （日本語）呼吸器における免疫学的有効性と安全性評価

開 発 課 題 名：（英 語）Safety and effectiveness of hPIV2-Ag85B vaccine in respiratory
immune system

研究開発分担者 （日本語）国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
ワクチンマテリアルプロジェクト プロジェクトリーダー 國澤 純

所属 役職 氏名：（英 語） Jun Kunisawa, Laboratory of Vaccine Materials, Project leader
National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

（５）分 担 研 究 （日本語）粘膜免疫誘導型結核ワクチンの安全性に関する病理学的解析

開 発 課 題 名: (英 語) Pathological analysis on mucosal immunity-induced tuberculosis vaccine safety

研究開発分担者 (日本語) 鈴鹿医療科学大学 薬学部 教授 伊奈田 宏康

所属 役職 氏名: (英 語) Hiroyasu Inada, Suzuka University of Medical Science,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Professor

(6) 分 担 研 究 (日本語) 結核菌抗原発現型遺伝子欠損ウイルスの培養と精製法の検討

開 発 課 題 名: (英 語) Research on production and purification of gene-deficient parainfluenza
type 2 virus vector vaccine harboring *Mycobacterium tuberculosis* antigen gene

研究開発分担者 (日本語) 日本ビーシージー製造(株) 日本 BCG 研究所 研究第一部長 松尾和浩

所属 役職 氏名: (英 語) Kazuhiro Matsuo, Head, Research and Development Department 1,
Japan BCG Laboratory

(7) 分 担 研 究 (日本語) ヒトパラインフルエンザ 2 型ウイルス感染状況に関する研究

開 発 課 題 名: (英 語) Epidemiological investigation of human parainfluenza virus type 2
infection

研究開発分担者 (日本語) 独立行政法人国立病院機構三重病院 副院長 菅 秀

所属 役職 氏名: (英 語) Shigeru Suga, Vice Director, National Hospital Organization
Mie National Hospital,

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- 1) 新規の HPIV2 結核ワクチンのワクチン効果をカニクイザルにおいて確認した、
- 2) 当該(28)年度においては、マイルストーンに従い、結核菌ならびに BCG の MDP1 (抗酸菌の遅発育性や増殖制御に関与する DNA 結合蛋白) と Esat6 (感染初期に細胞性免疫を誘導する結核菌の分泌蛋白) の融合蛋白遺伝子を、増殖性の異なる 3 種のヒトパラインフルエンザ 2 型ウイルスベクターに挿入した新規結核ワクチンを作製し、産生効率ならびに細胞傷害性等の検討を行った。抗原を挿入したいずれの HPIV2 も高効率の産生能と安定した増殖性が得られ、結核ワクチンとしての有効性を示した。

3) カニクイザル末梢血単核細胞 (PBMC) を用いて、*in vitro* で様々な抗原刺激をし、刺激依存的に産生されるサイトカイン、ケモカインを多重染色法によるマルチカラーフローサイトメーター (FACS) で解析する実験系を確立した。

4) HPIV2-Ag85B ワクチンの粘膜免疫誘導のメカニズムと安全性について、マウスを用いた *in vivo* レベルでの解析を行い、今年度は以下に示す成果を得ることが出来た。

i) HPIV2-Ag85B ワクチンを投与すると誘導性気管支関連リンパ組織 (inducible bronchus-associated lymphoid tissue: iBALT) が発達することがわかった。さらに詳細な免疫組織化学的解析を行なったところ、T 細胞領域と B 細胞領域が区域化され発達していること、樹状細胞が濾胞周囲に配備されていること、抗体クラススイッチや抗体親和性成熟に重要な胚中心反応が起きていること、リンパ球の遊走に関与する高内皮小静脈が発達していることが明らかになった。そのため、iBALT が hPIV2-Ag85B による抗原特異的免疫応答の誘導組織として機能している可能性が示唆された。

ii) これまでの先行研究により、インフルエンザ感染やリポポリサッカライドの投与により誘導される iBALT はリンフォトキシン (lymphotoxin: LT) シグナルに依存して形成されることがわかっている。そこで、hPIV2-Ag85B ワクチンにより誘導される iBALT も LT シグナルを必要とする可能性について LT シグナルを遮断できる LTβR-Fc 融合タンパク質を投与することで検討した。その結果、LT シグナルの遮断により iBALT が消失したことから、hPIV2-Ag85B による iBALT 形成も LT シグナルに依存していることが判明した。

iii) HPIV2-Ag85B ワクチン投与後の肺に好中球や好酸球といった炎症性細胞の浸潤は認められなかった。以上の結果より、HPIV2-Ag85B ワクチンの免疫誘導のメカニズムの一端として iBALT 形成が重要な役割を果たす可能性が示唆された。また、肺への炎症性細胞の浸潤レベルという観点から HPIV2-Ag85B ワクチンは免疫学的安全性に優れていると考えられる。今後は iBALT 形成阻害時におけるワクチン効果について検証する予定である。

5) 粘膜誘導型結核ワクチンの中期・長期の影響を、カニクイザルを用いて病理学的に検討した。その結果、局所および主要臓器においてワクチンの副作用につながると考えられる異常な炎症細胞浸潤や過剰な免疫応答はみられなかった。

6) HN 遺伝子欠損型 HPIV2 ベクターに結核菌抗原遺伝子を組み込んだ候補ワクチンについて、大量培養と精製濃縮ウイルスを調製するための基本プロセス開発と品質管理法 (遺伝子安定性評価法) の確立を検討した。その結果、挿入抗原の種類によって、継代ウイルスでの変異の入り易さに差があり、候補ワクチンの遺伝子安定性評価が重要であることがわかった。各ウイルスの継代培養を繰り返し、各代の挿入配列のシーケンス解析、ウイルス増殖曲線の解析およびウエスタンブロット法による抗原発現解析を行うことにより、本製造での安定性を担保するための品質管理法を確立できた。

7) 呼吸器感染症に罹患し入院加療を行った小児における、ヒトパラインフルエンザウイルス 2 型 (hPIV2) 感染実態を明らかにするため、咽頭ぬぐい液を用いて RT-PCR 法でウイルス遺伝子の検出を実施した。本年度は、更に気管支喘息様症状を呈して入院となった小児においても、hPIV 感染状況を明らかにした。他の呼吸器感染ウイルスも同時に検出を行い、比較検討を行った。

1) Vaccine effects of novel HPIV2-TB vaccine were observed in cynomolgus macaque.

2) The *Esat6* (the 6 kDa early secretory antigenic target, a potent T cell antigen; derived from *Mycobacterium tuberculosis*)-*MDPI* (Mycobacterial DNA binding protein 1, which leads to slow growth of the acid-fast bacteria; derived from either *Mycobacterium tuberculosis* or *Mycobacterium bovis* *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG)) fusion

gene was inserted into three kinds of human parainfluenza type 2 viral vectors. The resultant vectors as the novel recombinant vaccine against tuberculosis were characterized by investigating their yields and cytotoxicity to the producer cell line. All six vectors showed high yields with stable proliferation, indicating that they are good candidates as the recombinant vaccine against tuberculosis.

3) We have established multi-color flow cytometric analyses with monkey PBMCs to quantify and qualify antigen-specific T-cell responses based on several cytokines and chemokines production.

4) The mechanisms of immune induction and safety in HPIV2-Ag85B vaccine has been examined in mice.

i) We have revealed that nasal vaccination of mice with HPIV2-Ag85B induced the development of inducible bronchus-associated lymphoid tissue (iBALT) in the lung. Further, our intensive histological analysis revealed that an iBALT structure was composed of distinct regions of T and B cells as well as dendritic cells. In addition, germinal center formation was observed for Ig-class-switch recombination and hyper-somatic mutation. It was also found that high-endothelial venule was developed in the iBALT. These data collectively indicate that nasal immunization with hPIV2-Ag85B induce the development of iBALT, which is sufficient structure for the induction of antigen-specific immune responses.

ii) It has been reported that respiratory stimulation with pathogenic materials (e.g., LPS and influenza infection) induces the development of iBALT which was mediated by lymphotoxin (LT)-mediated signal. To examine the molecular requirement for HPIV2-Ag85B-induced-iBALT genesis, we developed and treated mice with LT β R-Ig fusion protein to inhibit LT-mediated signal. As a result, we found that mice treated with LT β R-Ig fusion protein lacked iBALT development after vaccination with hPIV2-Ag85B. The data demonstrated that LT-pathway is essential for HPIV2-Ag85B-induced-iBALT genesis.

iii) From safety point of view, our flow cytometric analysis revealed that hPIV2-Ag85B vaccine did not induce the infiltration with inflammatory cells such as neutrophils and eosinophils to the lung, suggesting that HPIV2-Ag85B vaccine did not induce unnecessary inflammation.

5) The effect of the mucosa-induced tuberculosis vaccine on the cynomolgus monkey in the medium term and long term was pathologically examined. As a result, there were no abnormal inflammatory cells infiltration or excessive immune responses thought to lead to vaccine side effects in the local and major organs.

6) Research on process development for large scale culture, purification and quality control (QC) of HN-deficient HPIV2 vector vaccine harboring Mycobacterium tuberculosis (Mtb) antigen gene was performed. Passage experiments revealed that accumulation of nucleotide mutation in the recombinant HPIV2 depends on its inserted Mtb gene and genetic stability would be a critical issue for the QC. We established QC test procedure to ensure stable vaccine production by analyzing insert sequence, virus growth profile and antigen expression level for the passaged viruses.

7) A prospective investigation of pediatric hospitalized patients with respiratory diseases was performed to detect hPIV type 2 from respiratory specimens by reverse transcription-polymerase chain reaction. In this study period, epidemiology of hPIV in pediatric hospitalized patients who had asthmatic symptoms was also revealed. In addition to hPIV, other respiratory viruses were investigated for comparison of epidemiology and clinical presentation of hPIV infections.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. Okamura T., Tsujimura Y., Soma S., Takahashi I., Matsuo K., Yasutomi Y. Simian immunodeficiency virus SIVmac239 infection and simian human immunodeficiency virus SHIV89.6P infection result in progression to AIDS in cynomolgus macaques from Asian country origin. J General Virol 97:3413-3426,2016
2. Uchihara T., Endo K., Kondo H., Okabayashi S., Shimozawa N., Yasutomi Y., Adachi E., Kimura N. Tau pathology in aged cynomolgus monkeys is progressive suranuclear palsy/corticobasal degeneration - but not Alzheimer disease -like-ultrastructural mapping of tau by EDX-. Acta Neuropathologica Commun. 2016 4;118-126,2016
3. Kobayashi M., Koyama T., Yasutomi Y., Sankai T. Male mate choice among captive long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) Int J Comp Physiol in press
4. Kimura N, Samura E, Suzuki K, Okabayashi S, Shimozawa N, Yasutomi Y. Dynein Dysfunction Reproduces Age-Dependent Retromer Deficiency: Concomitant Disruption of Retrograde Trafficking Is Required for Alteration in β -Amyloid Precursor Protein Metabolism. Am J Pathol 186:1952-1966, 2016.
5. Tajiri K., Yasutomi Y., Aonuma K. Recent advances in the management of autoimmune myocarditis: insights from animal studies. Curr Pharm Des. 2016;22:427-439
6. Suzuki S., Mori KI., Higashino A., Iwasaki Y., Yasutomi Y., Maki N., Akari H. Persistent replication of a hepatitis C virus genotype 1b-based chimeric clone carrying E1, E2 and p6 regions from GB virus in a Neew World monkey. Microbiol Immunol. 2016;60:26-34.
7. Yasuyo Fujishiro, Hiroshi Koie, H.Shibata, Sachi Okabayashi, Yuko Katakai, Chieko Ohno, Kiichi Kanayama, Y.Yasutomi, N.Ageyama. Tracking cells implanted into cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) using MRI. Exp Anim. 2016 Jul 29;65(3):311-8.
8. Tsujimura Y., Yasutomi Y. Allergy vaccines using Mycobacterium secreted antigen and IL-4 antagonist. Methods Mol. Biol. 2016;1403:723-738.
9. Ono R. Masuya M, Ishii S, Katayama N, Nosaka T. Eya2, a target activated by Plzf, is critical for *PLZF-RARA*-induced leukemogenesis. Molecular and Cellular Biology. 2017, in press.
10. Takeuchi, T, Yamaguchi M, Kobayashi K, Miyazaki K, Tawara I, Imai H, Ono R, Nosaka T. Tanaka K, Katayama N. MYD88, CD79B, and CARD11 gene mutations in CD5-positive diffuse

large B-cell lymphoma. *Cancer*. 2017, 123, 1166-73.

11. Yamanaka K, Nakanishi T, Isono K, Hasegawa C, Inada Y, Mizutani K, Matsushima Y, Okada K, Mabuchi T, Kondo M, Yamagiwa A, Kakeda M, Habe K, Nosaka T, Gabazza EC, Yamazaki H, Mizutani H, Kawano M. Restrictive interleukin-10 induction by an innocuous *Parainfluenza* virus vector ameliorates nasal allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017, 139, 682-86.e7.

12. Kobayashi K, Yamaguchi M, Miyazaki K, Imai H, Yokoe K, Ono R, Nosaka T, Katayama N. Expressions of SH3BP5, LMO3, and SNAP25 in diffuse large B-cell lymphoma cells and their association with clinical features. *Cancer Medicine*. 2016, 5, 1802-09.

13. Kitamura T, Okochi-Watanabe N, Enomoto Y, Nakahara F, Oki T, Komeno Y, Kato N, Doki N, Uchida T, Kagiya Y, Togami K, Kawabata KC, Nishimura K, Hayashi Y, Nagase R, Saika M, Fukushima T, Asada S, Fujino T, Izawa Y, Horikawa S, Fukuyama T, Tanaka Y, Ono R, Goyama S, Nosaka T, Kitaura J, Inoue D. Novel working hypothesis for pathogenesis of hematological malignancies; Combination of mutations-induced cellular phenotypes determines the disease (cMIP-DD). *The Journal of Biochemistry*. 2016, 159, 17-25.

14. Ito H, Ando T, Nakamura M, Ishida H, Kanbe A, Kobiyama K, Yamamoto T, Ishii KJ, Hara A, Seishima M, Ishikawa T. Induction of humoral and cellular immune response to hepatitis B virus (HBV) vaccine can be upregulated by CpG oligonucleotides complexed with Dectin-1 ligand. *J Viral Hepat*. 2016 Nov 3. doi: 10.1111/jvh.12629. [Epub ahead of print]

15. Kitahata Y, Kanuma T, Hayashi M, Kobayashi N, Ozasa K, Kusakabe T, Temizoz B, Kuroda E, Yamaue H, Coban C, Yamamoto T, Kobiyama K, Aoshi T, Ishii KJ. Circulating nano-particulate TLR9 agonist scouts out tumor microenvironment to release immunogenic dead tumor cells. *Oncotarget*. 2016 Jul 1. doi: 10.18632/oncotarget.10379. [Epub ahead of print]

16. Mitsuki YY*, Yamamoto T*, Mizukoshi F, Momota M, Terahara K, Yoshimura K, Harada S, Tsunetsugu-Yokota Y. (*contributed equally to this work) A novel dual luciferase assay for the simultaneous monitoring of HIV infection and cell viability. *J Virol Methods*. 2016 May;231:25-33.

17. Lissina A*, Ambrozak DR, Boswell KL, Yang W, Boritz E, Wakabayashi Y, Iglesias MC, Hashimoto M, Takiguchi M, Haddad E, Douek DC, Zhu J, Koup RA, Yamamoto T*, Appay V. (*co-corresponding authors) Selective Loss of Early Differentiated, Highly Functional PD1high CD4 T Cells with HIV Progression. *Immunol Cell Biol*. 2016 Jul;94(6):583-92.

18. Kobiyama K, Temizoz B, Kanuma T, Ozasa K, Momota M, Yamamoto T, Aoshi T, Kuroda E, Ishii KJ. Species-dependent role of type I IFNs and IL-12 in the CTL response induced by humanized CpG

complexed with β -glucan. *Eur J Immunol*. 2016 May;46(5):1142-51.

19. 升田 雄士, 山本 拓也. 霊長類モデルによるアジュバントの評価. 次世代アジュバント開発のためのメカニズム解明と安全性評価. 2017, 336-342

20. Kunisawa J. Metabolic changes during B cell differentiation for the production of intestinal IgA antibody. *Cell Mol Life Sci*. (2017, in press)

21. Tada R, Muto S, Iwata T, Hidaka A, Kiyono H, Kunisawa J, Aramaki Y. Attachment of class B CpG ODN onto DOTAP/DC-chol liposome in nasal vaccine formulations augments antigen-specific immune responses in mice, *BMC Res Notes*. 2017, 10(1): 68.

22. 國澤純、平田宗一郎、清野宏. 経粘膜ワクチンデリバリー製剤の開発の現状と今後の展望. 薬剤学. 2016, 76: 11-17.

23. Yamanaka K, Nakanishi T, Isono K, Hasegawa C, Inada H, Mizutani K, Matsushima Y, Okada K, Mabuchi T, Kondo M, Yamagiwa A, Kakeda M, Habe K, Nosaka T, Gabazza EC, Yamazaki H, Mizutani H, Kawano M. Restrictive IL-10 induction by an innocuous parainfluenza virus vector ameliorates nasal allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2017, 139(2), 682-6.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 保富康宏 結核ワクチンの開発 大阪シンポジウム 2016年12月17日 大阪

2. 保富康宏 Novel TB Vaccine シンポジウム 第6回国債結核肺疾患予防連合学術大会 2017年3月22-25日 東京

3. Organogenesis of inducible bronchus-associated lymphoid tissue has essential role in the induction of antigen-specific immune responses by Ag85B-hPIV2-based anti-tuberculosis vaccine in mice. 口頭, Nagatake T, Suzuki H, Nasu A, Hirata S, Wada Y, Matsumoto N, Shimojou M, Morimoto S, Hosomi K, Ogami K, Tsujimura Y, Kawano M, Nosaka T, Yasutomi Y, Kunisawa J. 第10回次世代アジュバント研究会, 2017/1/23-24, 国内.

4. Paramyxovirus V protein is a key molecule to escape from host antiviral immune responses. 口頭, Onoue K, Kawano M, Yasutomi Y. 第45回日本免疫学会学術集会, 2016/12/5-7, 国内.

5. MYD88, CD79B, and CD79A gene mutations in CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma. ポスター, Takeuchi T, Yamaguchi M, Kobayashi K, Miyazaki K, Tawara I, Imai H, Ono R, Nosaka T, Tanaka K, Katayama N. 58th ASH(American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition,

2016/12/3-6, 国外.

6. The F protein specificity of the parainfluenza virus HN protein can be modified by substituting specified amino acids in the HN head domain. 口頭, Tsurudome M, Ito M, Nishio M, Nosaka T. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23-25, 国内.

7. Analysis of novel molecular mechanism in PLZF-mediated leukemogenesis. 口頭, Ono R, Masuya M, Ishii S, Katayama N, Nosaka T. 第 78 回日本血液学会学術集会, 2016/10/13-15, 国内.

8. Inducible bronchus-associated lymphoid tissue plays an important role in the induction of antigen-specific immune response by Ag85B-hPIV2-based anti-tuberculosis vaccine in mice. ポスター, Nagatake T, Wada Y, Matsumoto N, Shimojou M, Hirata S, Nasu A, Suzuki H, Hosomi K, Ogami K, Tsujimura Y, Kawano M, Nosaka T, Yasutomi Y, Kunisawa J. AAI (The American Association of Immunologists) Annual Meeting (Immunology 2016), 2016/5/13-17, 国外.

9. 霊長類カニクイザルを用いた核酸アジュバント *in vivo* 投与による有効性と安全性の検討, 口頭, 升田雄士, 夏目 やよい, 小檜山 康司, 水口 賢司, 保富 康宏, 山本 拓也, 石井 健, 日本ワクチン学会 (東京), 2016/10/23, 国内

10. Assessment of nucleic acid-based adjuvant activity in non-human primate models *in vivo*, 口頭, Yuji Masuta, Yasuhiro Yasutomi, Takuya Yamamoto, Ken J. Ishii, 第 45 回日本免疫学会 (沖縄), 2016/12/5, 国内

11. 霊長類カニクイザルを用いた核酸アジュバント *in vivo* 投与による有効性と安全性の検討, ポスター, 升田 雄士, 夏目 やよい, 小檜山 康司, 水口 賢司, 保富 康宏, 山本 拓也, 石井 健, 第 11 回次世代アジュバント研究会 (大阪), 2017/1/24, 国内

12. Gut Environmental Factors Act as Natural Adjuvants in the Regulation of Intestinal Immune Responses against Oral Vaccines, 口頭, Jun Kunisawa, **10th Meeting of the Japanese Vaccine Adjuvant Research Consortium** Osaka (Senri Life Science Center), 2017/1/24, 国内.

13. Gut Environment in the Regulation of Host Immunity and Its Application to the Human Health Science, 口頭, Jun Kunisawa, **6th Investigative Commission of Ortho-Organogenesis** Okinawa (OIST), 2016/12/8, 国内.

14. Critical Roles of Gut Environmental Factors in the Regulation of Immunosurveillance and Allergic Diseases, 口頭, Jun Kunisawa, **The 45th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology** Okinawa (Lagna Garden Hotel), 2016/12/6, 国内.

15. 有機物存在下におけるオゾン水の殺菌効果, ポスター, 安藤尚幹, 平井一行, 駒田洋, 宗内篤夫, 村上道哉, 伊奈田宏康, 出屋敷喜宏, 中山浩伸, 第 62 回日本薬学会東海支部会, 2016/7/9, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

○第 3 回アジア感染症会議 (2016 年 4 月 22-23 日、東京)

○CTVD meeting (2016 年 6 月 24-25 日、シアトル)

○第 4 回アジア感染症会議 (2017 年 3 月 3-4 日、沖縄)

(4) 特許出願

なし