

# 出國報告（出國類別：研究）

## 流感病毒動物實驗技術研習

服務機關：衛生福利部疾病管制署

姓名職稱：楊季融 助理研究員

派赴國家：日本

出國期間：民國 102 年 11 月 17 日至 11 月 23 日

報告日期：民國 102 年 12 月 24 日

## 摘要

近年來新興(禽)流感病毒疫情頻傳，包括我國高病原性 (highly pathogenic) H5N2 病毒於雞隻間之大規模傳播、美國豬隻感染新型 H3N2 病毒 (H3N2 variant virus)；該病毒亦於人類引發偶發性感染、以及近期 H7N9 病毒於中國造成人類嚴重感染及死傷等；我國及香港亦皆有境外移入之確定病例。為有效預防及控制這些新興病毒對我國可能造成之威脅，持續監測病毒以掌握其基因體特徵並評估該病毒可能之致病力及傳播力；亦或評估疫苗對新興病毒之保護力等皆極為重要。為進行上述監測，本署除需具備生物資訊分析之能力外，流感病毒動物模式的建立是實際了解病毒對宿主影響力的不二法門。本次赴日本國立感染症研究所 (NIID) 研習，即是學習日方以實驗動物評估流感病毒感染力及疫苗保護力之實驗設計及相關技術，期望能將所學應用於傳染病防治業務，以強化本署實驗室對於新興流感病毒風險評估之能力。

## 目 次

摘 要 .....	2
目 的 .....	4
過 程 .....	7
心得及建議 .....	16
附 錄 .....	18

## 目的

流感病毒自 1918 年開始有文獻記載侵襲人類至今，已陸續引發多次大規模的疫情，包括 1918 年由 H1N1 亞型引發之西班牙流感 (Spanish flu)、1957 年 H2N2 亞型之亞洲流感 (Asia flu)、1968 年 H3N2 亞型之香港流感 (Hong Kong flu) 以及 2009 年由 H1N1 亞型引發之新型流感 (pandemic flu) 等。此外，香港及中國分別於 1997 年及 2013 年起爆發 H5N1 及 H7N9 禽流感病毒感染人類疫情，顯示 A 型流感病毒除了常見之 H1N1 及 H3N2 亞型可染感人類之外，H5、H7 及 H9 等亞型亦有感染人類宿主的機會。這些突如其來的大規模疫情，皆可能造成全球無數患者的傷亡。流感病毒具有藉由突變而持續演化之自然特性，小變異如抗原飄移 (antigenic drift) 即是病毒於變異速度較為快速之基因體片段如 HA 持續累積突變，使其抗原性一點一滴慢慢偏離較為早期之病毒株，甚至產生抗原性截然不同之流感病毒變異株 (variant)；大變異如抗原轉移 (antigenic shift) 則是造成某新興流感病毒於全球大流行的元兇，此類變異是藉由不同流感病毒間的基因互換，例如當不同來源的病毒株同時感染另一中間宿主時 (此種宿主目前推論可能為豬)，使兩種不同病毒於各自的複製過程中產生基因片段的互換及重新排列組合 (reassortment)，導致病毒抗原性大幅轉變，進而形成一種全新的流感病毒。然而，因此種變異之幅度因過於劇烈，人類的免疫力往往無法辨認此種新興流感病毒，因此絕大多數之族群皆為易感者，使該病毒容易造成全球性的大流行。此外，病毒於宿主細胞所造成的病變也可能因其基因體之特定突變而有所改變，對於宿主的特異性也可能同時受到影響。

雖然流感病毒具有上述特徵，疫苗仍是預防流感病毒染感的最有效方法之一，但可預期的是流感病毒的持續演變可能會使疫苗失去其應有的保護效力。有鑑於此，世界衛生組織 (WHO) 每年皆需依照北半球與南半球各國當年所流行之流感病毒株，分別決定下個流感季疫苗株的組成，其中北半球公佈時間為每年二月，南半球則為每年 9 月。以北半球為例，自疫苗株公布後，世界各國之疫苗廠需立

即以該病毒株投入疫苗生產，以因應各國於同年 10 月起之流感疫苗施打計畫，為即將面臨之流感高峰期預做準備。除了傳統以活病毒或去活化病毒為基礎的流感疫苗之外，隨著重組蛋白技術的發展，以重組蛋白例如病毒 HA 表面蛋白或是類顆粒病毒 (virus-like particle) 等作為疫苗抗原的研究為未來疫苗發展的主流項目。此類新興疫苗發展的願景主要是因目前國際疫苗廠產製疫苗的產能主要皆用於季節流感疫苗的生產，若某新興流感病毒 (例如禽流感病毒) 造成人類突如其來的疫情，疫苗廠將無法於第一時間轉移疫苗產能至產製該禽流感病毒疫苗，導致疫苗無法於疫情尚未大規模爆發前施打於易感族群，而他們面臨免疫力不足之窘境。此類疫苗目前雖僅少數獲得美國 FDA 認證而可公開販售，惟多數動物實驗已陸續證實其良好的保護力及免疫原性 (immunogenicity)，其應用性深具潛力。

除了疫苗之外，持續掌握流感病毒的特性，亦是我們對抗流感病毒的利器。在探討病毒體本身對宿主之致病力、傳播力以及對抗病毒藥物之感受性時，亦需以科學實驗進行探討以獲得具體結果，而動物實驗是得到此類資訊最常用且最可信的方式之一。一個適當的動物模式可有效將病毒對其產生之影響套用至人類，且某些動物如小鼠因其具備較易取得性，可使研究結果容易獲得統計上之顯著意義。可用於流感病毒動物實驗的動物模式包括小型動物如小鼠 (mouse)、大鼠 (rat)、天竺鼠 (guinea pig)、雪貂 (ferret) 等；某些研究機構更將動物模式建立於猴子等較為高等之靈長類動物，期望所得之研究成果可更貼近於病毒在人類之實際情況。上述實驗動物因特性不同因而具備各自之優缺點。雪貂之上呼吸道具備與人類較為類似之流感病毒受體，故其可被人類流感病毒感染，藉以探討病毒感染後所產生之病變等；此外，雪貂於感染人類流感病毒後，會產生與人類相似之症狀例如發燒、打噴嚏、倦怠、食慾不振及體重下降等，故此動物目前被認為是實驗室可取得之小型動物中，最適合做為流感病毒動物模式之實驗對象。然而雪貂也因取得較為不易、價格昂貴以及需要較為特殊之飼養環境等因素，目前仍較

不易於一般實驗室中操作。因此，另一個廣泛使用於大眾實驗室之流感病毒動物模式為小鼠。相較於雪貂，雖然小鼠並不是人類流感病毒的自然宿主，故並非每株流感病毒皆可成功感染小鼠；但小鼠較容易取得，且品系眾多可供實驗者依不同實驗需求自由選擇，飼養環境之基本需求也較雪貂低。若從售價來看，每隻小鼠的價格僅為雪貂之二百分之一，故實驗者以小鼠研究流感病毒時，較容易以具有統計意義之實驗動物數目獲得結果。此外，動物實驗往往需要評估動物被病毒感染後之免疫反應，而目前市售抗體檢測試劑又以小鼠系統適用居多，基於上述理由，小鼠應是目前最廣為應用於流感病毒相關研究之動物模式。

本署為我國傳染病防治之最高主管機關，每當各種新興流感病毒於國際(內)出現後，亟需立即掌握該病毒之基因體特性、開發對該病毒之檢驗方法、評估該病毒可能之致病力及傳播力、評估疫苗對該病毒之保護力等。上述重點項目中，目前本署實驗室較欠缺以動物實驗實際評估病毒致病力、傳播力及疫苗保護力之實務經驗。此次赴日研習之主要目的即是學習「如何藉由動物模式評估流感病毒致病力(pathogenesis)及傳播力(transmissibility)」及「如何藉由動物模式評估流感疫苗之保護力」等核心技術，藉以強化本署研檢中心以動物實驗方法對新興流感病毒(novel influenza viruses)進行風險評估之能力，並提升本署未來研發「亞洲流感疫苗」之技術層次；未來對於新興流感病毒之動物實驗結果將可作為本署制訂流感防治政策時之重要參考依據。此外，我們亦期望可藉此機會建立與日本 NIID 更為暢通之聯繫管道，拓展本署國際人脈，俾利台日雙方未來對於流感病毒相關資訊之分享與交流。

## 過程

### (一)、行程

此次奉派赴日本研習地點為國立感染症研究所 (National Institute of Infectious Diseases, Japan) 流感研究中心 (Influenza Virus Research Center) 之第六室 (Laboratory of Mucosal Vaccine Development)。該中心位於東京都武藏村山市，屬國立感染症研究所之村山廳舍，而第六室位於該廳舍之 6 號棟。研習期間自民國 102 年 11 月 17 日起至 11 月 23 日止，含路程共計 7 天。相關時間、地點及行程內容詳述如下：

日期	工作日誌	地 點	行 程 內 容
102/11/17	啟程/抵達	台北→東京	路程/抵達
102/11/18~ 102/11/22	研習	東京	流感實驗技術研習
102/11/23	返程/抵達	東京→台北	路程/抵達

### (二)、研習內容

本次研習由日本 NIID 流感研究中心第六室室長淺沼秀樹博士 (Dr. Hideki Asanuma) 親自安排及指導。該室的主要任務，即是以動物實驗進行流感疫苗相關研究，藉以評估該中心自行研發疫苗之效用；或以動物實驗探討某流感病毒對宿主潛在的致病能力。本次的研習內容為以動物模式 (包括小鼠及雪貂) 探討流感病毒致病力、流感疫苗的保護力、以及疫苗產生的抗體分析等操作技術 (相關學習內容與每日研習課表詳如附表一)，其主題可分為幾大項目，且以小鼠為主：小鼠基本解剖及採血技術、小鼠器官沖洗液取得技術、小鼠淋巴結及淋巴組織取得技術、小鼠疫苗接種及流感病毒感染技術、雪貂採血及鼻腔沖洗液取得技術等。特別值得一提的是，本次研習亦有機會觀摩 NIID 病毒第二部所進行以獼猴 (Macaque) 為動物模式之實驗，實為一次寶貴的經驗。此外，依照日本 NIID 之規定，各短期研習人員必須接受兩小時實驗室生物安全 (Laboratory Biosafety) 課程，並於通過考試後始能獲得進入實驗室操作之授權，因此生物安全相關課程亦為本

次研習內容之一。以下將詳細介紹本次所學習之各項動物實驗相關技術。

### (1) 小鼠心臟採血

採血為動物實驗最基本的技術之一，心臟採血法是當需要採集大量血液時的方法。一隻成年小鼠的總血量約 1.6 至 2.5 ml，而以心臟採血的方式可採集約 1 至 1.3 ml 的血液。此種方式的優點在於可採集大量的血液供多種分析方式使用，缺點則是經心臟採血後的小鼠將會犧牲，也意味動物實驗終點的到來。小鼠心臟採血的步驟簡述如下：

- A. 將小鼠以麻醉劑 (isoflurane) 麻醉。
- B. 將麻醉後的小鼠平躺於操作台上，於其劍狀軟骨突下方約與腹部呈 15 至 30 度角向胸腔緩緩推入。
- C. 觀察是否有迴血，若有迴血則可緩慢將血液自心臟抽出，直至採集約 1 至 1.3 ml 止。



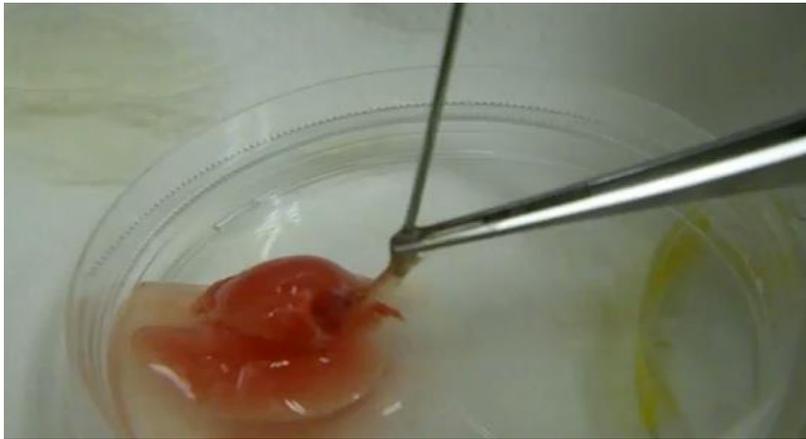
圖一、小鼠心臟採血。

### (2) 小鼠肺沖洗液 (lung wash) 採集

小鼠肺沖洗液的採集，是藉由將完整的肺臟自小鼠取出後，以水溶液將肺臟內部的物質沖出，使研究人員可進行該沖洗液的後續分析。此沖洗液可

用來偵測小鼠感染流感病毒後病毒於肺臟（下呼吸道）的含量，或是當小鼠被流感疫苗免疫後，可測量肺沖洗液之抗體含量及種類，以了解該疫苗抗原對於小鼠所產生的效用。小鼠肺臟沖洗液的採集步驟簡述如下：

- A. 將小鼠以麻醉劑 (isoflurane)過量麻醉至犧牲。
- B. 以心臟採血法採集小鼠全身血液，避免後續解剖過程中血液沾黏至肺臟組織。
- C. 將小鼠完整之肺臟包含氣管自胸腔分離。
- D. 以 21G 之平頭針將 2 ml 之磷酸鹽緩衝液 (PBS)自氣管處灌入。
- E. 重複此過程 3 次則該懸浮液即為肺臟沖洗液。



圖二、小鼠肺臟沖洗液採集。

### (3) 小鼠鼻腔沖洗液 (nasal wash)採集

與肺沖洗液的採集相似，小鼠鼻腔沖洗液的採集，是以水溶液將鼻腔內部的物質沖出，以進行該沖洗液的後續分析。此沖洗液可用來偵測小鼠感染流感病毒後病毒於鼻腔（上呼吸道）的含量，或是當小鼠被流感疫苗免疫後，可測量鼻腔沖洗液之抗體含量及種類，以了解該疫苗抗原對於小鼠所產生的效用。此方法較為特殊的地方為，採集鼻腔沖洗液可分析其 IgA 抗體之含量，藉以評估某流感疫苗是否可達黏膜免疫 (mucosal immunization)之功效。小鼠

鼻腔沖洗液的採集步驟簡述如下：

- A. 將小鼠以麻醉劑 (isoflurane)過量麻醉至犧牲。
- B. 以心臟採血法採集小鼠全身血液，避免後續解剖過程中血液沾黏至鼻腔組織。
- C. 自小鼠上下顎連結處以解剖剪刀切斷，並將完整之小鼠頭部切下。
- D. 以 21G 之平頭針將 1 ml 之磷酸鹽緩衝液 (PBS)自鼻管處灌入。
- E. 重複此過程 3 次則該懸浮液即為鼻腔沖洗液。



圖三、小鼠鼻腔沖洗液採集。

#### (4) 小鼠鼻相關淋巴組織採集

小鼠之鼻相關淋巴組織 (Nasal Associated Lymphoid Tissue; NALT)為黏膜相關淋巴組織 (Mucosa Associated Lymphoid Tissue; MALT)之一種，目前被認為是上呼吸道黏膜免疫力的誘導處 (induction site)，這其中尤以 IgA 為最重要的黏膜相關免疫力指標。小鼠的 NALT 為淋巴組織的聚集處，包含大量之淋巴球 (lymphocyte)，當某疫苗以鼻腔做為途徑對小鼠進行免疫後，往往可藉由分析 NALT 當中之抗體組成，探討該疫苗是否會在鼻腔產生局部免疫效果。小鼠鼻相關淋巴組織之取得步驟簡述如下：

- A. 將小鼠以麻醉劑 (isoflurane)過量麻醉至犧牲。

- B. 以心臟採血法採集小鼠全身血液，避免後續解剖過程中血液沾黏至鼻腔組織。
- C. 自小鼠上下顎連結處以解剖剪刀切斷，並將完整之小鼠頭部切下。
- D. 將鼻相關淋巴組織自鼻腔部位剪下 (如圖四 A)。
- E. 將沾黏於鼻相關淋巴組織之鼻骨移除。
- F. 移除鼻骨後之平坦部位即為 NALT (如圖四 B)。



圖四 A、小鼠鼻相關淋巴組織位置圖  
(如剪刀剪下處)。

圖四 B、小鼠鼻相關淋巴組織。

#### (5) 小鼠唾液 (saliva) 採集

小鼠唾液採集之目的主要為分析小鼠經病毒自然感染鼻腔，或是以鼻腔滴定方式接種疫苗後是否可於唾液產生抗體。唾液之採集步驟簡述如下：

- A. 將 100  $\mu$ l 之 pilocarpine hydrochloride (1 mg/ 1 ml) 以腹腔注射方式對小鼠進行注射。
- B. 等待 3~5 分鐘後小鼠將會開始分泌唾液。
- C. 採集唾液而該唾液可直接用於 ELISA 等後續分析。

#### (6) 小鼠鼻腔病毒接種 (intranasal virus inoculation)

探討流感病毒的致病力 (pathogenesis) 最常用的方式為將病毒感染實驗

動物，藉由觀察動物於感染後的生理變化了解病毒特性。流感病毒為呼吸道病原體，故以病毒感染小鼠最常用的接種途徑為鼻腔接種 (intranasal route)，使病毒經由呼吸道逐步感染鼻腔、氣管等上呼吸道以及肺臟等下呼吸道組織。以鼻腔方式接種病毒前，小鼠必須先以麻醉劑麻醉，使小鼠可於平靜的狀態下接受病毒感染，提高病毒進入下呼吸道的機會。小鼠鼻腔接種病毒之步驟簡述如下：

- A. 以 Ketamine (100 mg/kg)及 Xylazine (10 mg/kg)之混合物作為麻醉劑，以腹腔注射方式麻醉小鼠；約 3 至 5 分鐘後小鼠可被完全麻醉。
- B. 以微量滴管取具活性之病毒 (感染模式探討)或去活化流感病毒抗原 (疫苗免疫模式探討)約 2  $\mu$ l (鼻腔感染及免疫)至 20 $\mu$ l (肺部感染)，於小鼠鼻孔上方緩慢將病毒液滴入。
- C. 將小鼠靜置約 5 分鐘，直到小鼠呼吸變為平緩為止即完成病毒接種。
- D. 觀察小鼠甦醒狀況，小鼠以此劑量麻醉後將於 40~60 分鐘後清醒。



圖五、小鼠鼻腔病毒接種

#### (7) 實驗觀摩-以猴子研究 Saffold virus 對其致病能力

本實驗為 NIID 感染病理部所進行，其將 Saffold virus 以靜脈注射的方式打入猴子體內，藉由觀察猴子於病毒接種後的症狀以探討該病毒對於猴子的致病能力。本次觀摩內容為觀察接種病毒後猴子的活動力與肢體力度等表現、

採集血液進行血清抗體分析以及採集喉頭與肛門拭子以檢測病毒對分別於呼吸道及腸胃道的感染能力。

NIID 感染病理部共有 3 間可進行猴子實驗之飼養室，實驗進行時每隻猴子皆以鐵鍊鎖住，當需要觀察猴子症狀時，實驗者會將猴子由籠子釋放，以手持鐵鍊的方式，任由猴子於實驗室內跳動玩耍，藉以觀察猴子的活動能力及肢體肌肉強度。猴子肢體強度的測量可藉由不時拉扯鐵鍊引發猴子抵抗，以評估猴子四肢強度是否受病毒影響，若肢體強度下降，則可能因病毒所造成之肢體輕微麻痺引起。當進行猴子血液及喉頭拭子採集時，猴子先以 Ketamine 搭配 Xylazine 進行麻醉鎮靜後，於其鼠蹊部位進行採血，每次 10 ml，並以棉棒伸進喉嚨與肛門採集檢體。本實驗之期程為 10 天，待實驗結束後，猴子將以 Ketamine 過量麻醉而犧牲。

#### (8) 小鼠淋巴球分離

經上述解剖步驟所取得之小鼠臟器、沖洗液或淋巴組織等，可後續將淋巴球自其中分離，進而分析該淋巴球的特性，例如是否可於接受某特定抗原刺激後分泌特定細胞激素 (cytokine) 或抗體，以探討病毒感染或疫苗免疫對小鼠免疫層面的影響。

由淋巴組織取得淋巴球之步驟簡述如下：

- A. 將脾臟或淋巴組織以剪刀剪成小碎片，置於含有 10% 胎牛血清 RPMI 培養液或 PBS 之培養皿中。
- B. 將剪碎後的組織以 10 ml 針筒塞或是兩片載玻片研磨，使其內部之淋巴球釋放至培養皿中之培養液或 PBS。
- C. 將培養液或 PBS 以 100 xg 離心 10 分鐘，移除上清液並加入 PBS 清洗沉澱之淋巴球。
- D. 以同轉速再次離心，移除上清液並加入 RPMI 培養液或 PBS 製成淋巴球

懸浮液。

E. 該懸浮液將可用於後續免疫分析。

由肺臟、脾臟取得淋巴球之步驟簡述如下：

- A. 將肺臟組織以剪刀剪成小碎片置於含有 10%胎牛血清 RPMI 培養液或 PBS 之培養皿中，並加入膠原蛋白酶 (collagenase)，於 37°C 作用 30 分鐘，以分解組織。
- B. 將培養液以 100 xg 離心 10 分鐘，移除上清液並加入 PBS 清洗沉澱物。
- C. 以同轉速再次離心，移除上清液並加入 RPMI 培養液或 PBS 製成懸浮液，該懸浮液中除淋巴球外，仍具單核球 (monocyte)、顆粒球 (granulocyte)、紅血球及其他上皮細胞等。
- D. 配置 40% 以及 70% 之 Percoll 溶液，製成密度梯度層，並將上述上清液加入此梯度層。
- E. 以 200 xg 離心 15 分鐘，淋巴球將會落在兩 Percoll 層交界處，可再以微量滴管將其取出。
- F. 取出之淋巴球可用於後續免疫分析。

#### (9) 以酵素免疫法 (ELISA) 偵測鼻沖洗液或唾液中之 IgA 抗體

除了由臟器或淋巴組織中取得淋巴球外，小鼠之鼻沖洗液或唾液於取得後可進一步分析是否具有 IgA 抗體，以探討經鼻腔感染或疫苗免疫後是否可刺激小鼠體內產生黏膜免疫。以酵素免疫法 (ELISA) 偵測鼻沖洗液或唾液中之 IgA 抗體步驟簡述如下：

- A. 將病毒或疫苗抗原隔夜固定 (coating) 於 ELISA 分析盤孔上，每孔固定之抗原量為 1  $\mu\text{g}$ 。
- B. 以 TBST 緩衝液清洗各盤孔，並以 1% BSA 將盤孔中之孔隙填滿，再次

以 TBST 緩衝液清洗。

- C. 將唾液或濃縮後之鼻沖洗液加入上述盤孔中，於室溫反應 1~2 小時。
- D. 清洗盤孔，加入帶有 HRP (Horseradich Peroxidase)之 anti-mouse IgA 二級抗體，於室溫反應 1 小時。
- E. 清洗盤孔，加入 HRP 酵素之受質 TMB ，於室溫反應 10~15 分鐘。
- F. 加入 0.5N 硫酸終止反應，以吸光儀測量 OD450 之數值，並與陽性對照及陰性對照所得數值互相比較，計算 IgA 抗體含量。

## 心得與建議

本次奉派赴日本 NIID 研習流感相關動物實驗獲益良多。首先感謝本署長官給予研習之寶貴機會，使職利用五天的時間，學習日方對於流感動物實驗之操作技術，並瞭解如何將這些技術應用至後續相關研究。此外，本次研習期間亦有多次機會與流感中心其他研究室之研究人員接觸討論，例如與第三室之佐藤佳代子博士討論季節性流感疫苗相關產製技術；與第五室之原田勇一博士討論禽流感 H9N2 病毒小鼠感染實驗等，除了學到許多新觀念外，對於本署國際人脈的拓展亦有幫助。因職曾於民國 99 年至 WHO 流感合作中心 (NIID 第一室)研習，本次職亦主動與該室成員聯繫，期望台日雙方流感中心之溝通管道可以延續。

NIID 流感研究中心目前包含六個研究室，其工作包括流感病毒監測業務以及相關研究兩大部分，與本署國家流感中心相似。在病毒監測方面，例行業務包括流感病毒監測；抗原性、抗藥性及演化分析等，也是 WHO 全球五大流感合作中心 (collaborating center)的重點工作；此外，季節性 (seasonal)及大流行 (pandemic)流感疫苗種株製備以及疫苗 cGMP 品管也是該中心的重點業務項目。在研究方面，該中心除積極研發新興流感病毒快速檢測法外，亦探討多種新興流感病毒 (如 H7N9、H9N2 等)對於宿主的感染能力、研發新型流感疫苗，包括建立以細胞培養技術為基礎之 cell-based 疫苗製備平台及研發新興禽流感疫苗等，這些研究成果將可強化 NIID 在推動整體流感相關防治業務的策略擬定。此外，NIID 流感中心特別設立第六室為專責實驗動物研究室並建立多種技術平台，這也顯示日方對於流感病毒相關動物實驗的重視。

一個有效的流感疫苗在進入臨床實驗之前，皆需以動物實驗作為前驅試驗，先於動物模式中證明疫苗的安全性及有效性，再往人體試驗推進，因此一套完整動物模式的建立對於疫苗研發極為重要。探討流感病毒對於宿主的致病能力亦不例外，動物實驗的結果往往可作為病毒基因體分析之外強而有力的證據。本次研習地點 NIID 第六室即是該中心動物實驗的核心，中心各研究人員的研究計畫若

有需要進行動物實驗，皆可與第六室合作完成。該室室長 Dr. Asanuma 本身為一名獸醫師，對於各種大小型動物皆有臨床上的實務經驗，在基本動物的操作上亦具精湛的技術，因此多數動物實驗皆由室長親自執行，而職在五天的研習過程中也都由他本人一對一親自指導，對於學習效率的提升很有幫助。除此之外，NIID 亦鼓勵不同研究單位間的多元合作與交流，使職除了學習預定中的重要技術外，也有許多機會與流感中心以及其他研究單位（例如感染病理部）之研究人員討論，學習他們如何藉由動物模式評估流感或其他病毒致病力的實驗設計，如同本次觀摩感染病理部實驗室所進行以猴子為模式的動物實驗，相信這個寶貴的經驗是在台灣不易獲得的。

總結研習心得，憑藉本次赴日所學之基本技術與觀念，期許未來可於本署建立技術平台，使流感相關研究計畫可搭配動物實驗而有更為多元的規畫與結果呈現。

#### **對本署的建議：**

良好的技術是一個實驗室運作的根本，而良好技術的建立除需實驗室人員本身的專業知能外，亦需藉由持續的技術交流激發精進的火花。建議本署未來可持續編列經費，供實驗室人員每年至國外學習觀摩新技術，使各同仁有機會藉由了解雙方技術之異同後，以對方的優點改進自己的缺點，本署實驗室之軟實力將會持續累積與成長。

## 附錄

### 附表一、日本 NIID 研習課表

#### Experiment Schedule in NIID

##### **Nov 18 (Mon)**

9:00 - : Guidance

14:00 - : Collection of saliva (and serum) from **mice** immunized with vaccine

16:00 - : Dissection of **mice** and collection of lymphocytes from various organs (Training, Pt.1) (And how to collect nasal and lung washes)

##### **Nov 19 (Tue)**

9:30 - : Assay for IgA Abs in mice saliva (ELISA)

11:00 - : Virus infection and blood collection from **mice** under anesthesia (A/H1N1pdm)

14:00 - : Dissection of **mice** and collection of lymphocytes from various organs (Training, Pt.2)

##### **Nov 20 (Wed)**

9:30 - : Collection of serum and nasal wash and dissection of **ferret** infected with influenza H3N2 virus

13:30 - : Preparation of **ferret** serum sample for HI assay

15:00 - : Dissection of **mice** and collection of lymphocytes from various organs

##### **Nov 21 (Thu)**

9:30 - : HI assay of **ferret** serum sample (seasonal influenza)

14:00 - : Observation and collection of blood from **Macaque** given infection (not influenza)

##### **Nov 22 (Fri)**

10:00 - : Lecture

11:00-: Collection of lung tissue and serum sample from **mice** infected with A/H1N1pdm virus.

## 附圖



附圖一、職與 NIID 流感研究中心成員之合照。本圖前排中央為該中心主任 Dr. Tashiro；往左為中心第一室 (WHO 流感合作中心) 室長 Dr. Odagiri；後排職之後為中心第二室室長 Dr. Kageyama；最左邊為中心第六室室長 Dr. Asanuma。其餘成員為流感中心第一至第六室之研究人員等。



附圖二、職與流感中心第六室室長 Dr. Asanuma 之合照。