

201104009A

厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

急性呼吸器感染症の感染メカニズムと疫学、
感染予防・制御に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山中 昇

平成24（2012）年5月

厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

急性呼吸器感染症の感染メカニズムと疫学、 感染予防・制御に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山中 昇

平成24（2012）年5月

目 次

I 総括研究報告

急性呼吸器感染症の感染メカニズムと疫学、感染予防・制御に関する研究

山中 昇	1
------------	---

II 分担研究報告

1. 「新型インフルエンザ」肺炎における急性期遺伝子発現

森島 恒雄	31
-------------	----

2. 新型インフルエンザのウイルス学・病態解析と感染制御法の検討

河岡 義裕	35
-------------	----

3. インフルエンザサーベイランスと新型インフルエンザ発生に対する危機管理体制 の構築

田代 真人	37
-------------	----

4. 2009-2010年, 2011-2011年シーズンに日本で流行したインフルエンザウイルスの 分子疫学的解析

斎藤 玲子、鈴木 宏	41
------------------	----

5. 急性呼吸器感染症の感染メカニズムと疫学、感染予防・制御に関する研究 鳥、ブタなどのインフルエンザ疫学と感染制御体制の検討

喜田 宏	46
------------	----

6. 経鼻インフルエンザワクチンにより誘導される交叉免疫応答の解析

長谷川秀樹	50
-------------	----

7. R S ウイルス感染とヒト鼻粘膜タイト結合との関係

堤 裕幸	57
------------	----

8. ホルマリン不活化R S V ワクチンの失敗モデルの作製

中山 哲夫	63
-------------	----

9. モンゴルにおいて流行したアデノウイルス	
押谷 仁	67
10. インフルエンザ後二次性肺炎の発症に関与する新規宿主および細菌因子の探索	
大石 和徳	70
11. 上気道感染症における肺炎球菌およびインフルエンザ菌の病原性と母体免疫による 感染予防の検討	
山中 昇	76
12. 肺炎球菌における抗原性タンパクの迅速スクリーニング法の開発	
荒川 宜親	82
13. 7 価肺炎球菌ワクチン導入前後の小児呼吸器感染症由来肺炎球菌血清型に関する 検討	
石和田稔彦	89
14. 中国における市中気道感染症由来 <i>Haemophilus influenzae</i> の薬剤感受性及び水 平伝播についての研究	
渡邊 浩	91
III 研究成果の刊行に関する一覧表	95
IV 研究成果の刊行物・別刷	107

I 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金地球規模保健課題推進研究事業
総括研究報告書

急性呼吸器感染症の感染メカニズムと疫学、感染予防・制御に関する研究

主任研究者：山中 昇（和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授）

研究概要

（目的）

急性呼吸器感染症（ARI）はインフルエンザやRSなどのウイルスおよび、細菌、マイコプラズマ、クラミジアなど多種類の病原微生物が関与する。本研究は日米医学協力研究ARI部会の活動ともリンクし、日米および東南アジアにおけるARI関連疾患の予防・制御を目的とする。本研究のキーワードは、①疫学的データの集積・特徴的な臨床像の解析、②病態の解明、③ウイルスと細菌の重複感染による重症化、④変異と薬剤耐性、⑤ワクチンによる予防と新しい予防手段の開発である。

（方法）

Pandemic A(H1N1)2009（以下A(H1N1)pdm09）インフルエンザについては、本研究組織の特徴であるウイルス学および細菌学のARI分野の基礎・臨床の研究者が協力して、①～⑤について検討をすすめた。一方、A(H1N1)以外の新たな「新型インフルエンザ」の登場や、東南アジアをはじめ全世界で蔓延し、ヒトにおける発生からパンデミックへの危険性が高まっているA(H5N1)高病原性鳥インフルエンザのモニタリングも非常に重要と考え、新たな「新型インフルエンザ」の可能性や薬剤耐性ウイルスの出現について検討した。細菌感染症においては薬剤耐性菌の世界的な急増が大きな問題となっており、本邦においても呼吸器感染症の主要起炎菌耐性化が急速に進んでいる。本研究では肺炎球菌やおよびインフルエンザ桿菌の薬剤感受性の推移、血清型の分布、薬剤耐性株の遺伝子変異パターンの検討を行った。

（結果と考察）

A(H1N1)pdm09）インフルエンザにおいて小児を中心に重症のウイルス性肺炎が多発した。推定で15歳未満の肺炎による入院は約1万人と多数に上った。しかし、その中で重症肺炎（肺炎・酸素の使用・1週間以上の入院）は400例と少なく、わが国のインフルエンザ診療が適切に行われたと考えられる。このウイルス性肺炎の多発は従来の季節性インフルエンザでは全く認められず、A(H1N1)pdm09インフルエンザ（新型インフルエンザ）の大きな特徴であった。

インフルエンザの病態解析では、DNAマイクロアレイを用いた急性期宿主側遺伝子発現の解析により、重症肺炎例では急性期にCNTNAP3、IgE、SOD2などの遺伝子発現が増強していることが判明した。一方、肺炎を発症しなかった群ではこれらの傾向は認められなかった。興味深いことに、これらの特徴はH5N1高病原性鳥インフルエンザヒト重症例の特徴とよく一致していた。さらに高病原性鳥インフルエンザウイルスの宿主の組織における増殖とサイトカインmRNAの発現量の検討では、両者の間に顕著な相関を認め、全身組織における高病原性鳥インフルエンザウイルスの急激な増殖によって誘導されるサイトカインの過剰応答が血管障害を引き起こす結果、多臓器不全によってニワトリは斃死することを示唆した。このようなヒトと動物のインフルエンザにおける病態の解明によって、予防、診断および治療法の開発に有用な知見が得られ、今後病原性の高い「新型インフルエンザ」に対する治療法の確

立のうえで重要な知見と考えられた。

インフルエンザウイルスの病原性解析では、病原性が高い Osaka164株のポリマーゼタンパク質(PB1,PB2)において、PB2の649番目とPB1の667番目、またはPB2の340番目とPB1の667番目アミノ酸の組合せにより、マウスでの致死率が親株より高くなることが明らかとなった。本研究により、A(H1N1)pdm09ウイルスについて、これらのアミノ酸が新規のウイルス側の病原性発現因子であること、そして、遺伝子交雑により、より病原性の強いウイルスが出現する可能性が示唆された。

継続的なサーベイランスでは、2009-2010年シーズンはA/H1N1pdmのみの流行であったが、2010-2011年はA(H1N1)pdm09、A(H3N2),B型の混合流行であった。薬剤耐性ウイルスについては、2010-2011年のポストパンデミックのシーズンでは、オセルタミビル耐性であるH275Y変異を有する株の頻度は低かった(0.5%)。前年度はこの変異を持つ株は検出されていなかったことから、今後も耐性モニタリングを継続する必要があると考えられた。

細菌感染症においては、ウイルスと細菌の重複感染による重症化や肺炎球菌およびインフルエンザ菌の難治性感染症の病態解明が進められた。すなわち、インフルエンザ感染後の肺炎球菌二次感染モデルでは、サイトカイン/ケモカインの発現が二次感染ウイルスにおいて有意に上昇しており、重複感染の重症化のメカニズムを示す重要な成績が得られた。さらに肺炎球菌の莢膜の変化に基づいた感染メカニズムや小児気道感染におけるインフルエンザ菌のバイオフィーム産生による遷延化の病態が解明された。本邦においても2010年に7価肺炎球菌ワクチン(PCV7)が導入され、接種率の向上に従って、すでに小児における肺炎球菌血清型の変化が生じていることが判明し、継続的な調査の必要性和新しいワクチン候補としての肺炎球菌蛋白の探索が強調された。

A. 研究目的

急性呼吸器感染症(ARI)はインフルエンザやRSなどのウイルスおよび、細菌、マイコプラズマ、クラミジアなど多種類の病原微生物が関与する。本研究は日米医学協力研究ARI部会の活動ともリンクし、日米および東南アジアにおけるARI関連疾患の予防・制御を目的とする。本研究のキーワードは、①疫学的データの集積・特徴的な臨床像の解析、②病態の解明、③ウイルスと細菌の重複感染による重症化、④変異と薬剤耐性、⑤ワクチンによる予防と新しい予防手段の開発である。Pandemic A(H1N1)2009(以下A(H1N1)pdm09)インフルエンザについては、本研究組織の特徴であるウイルス学および細菌学のARI分野の基礎・臨床の研究者が協力して、①～⑤について検討をすすめた。一方、A(H1N1)以外の新たな「新型インフルエンザ」の登場や、東南アジアをはじめ全世界で蔓延し、ヒトにおける発生からパンデミックへの危険性が高まっているA(H5N1)高病原性

鳥インフルエンザのモニタリングも非常に重要と考え、新たな「新型インフルエンザ」の可能性や薬剤耐性ウイルスの出現について検討した。

A(H1N1)pdm09の治療成績が、諸外国より突出して優れていた日本の治療の基本は、「病態に基づいた治療」であると考えられる。したがって、未だ治療法の確立されていないH5N1にこれを応用し、H5N1の治療法の確立をめざした。すなわち、A(H1N1)pdm09小児肺炎症例のマイクロアレイ解析を実施し、A(H1N1)pdm09の病態解明を行った。

細菌感染症においては薬剤耐性菌の世界的な急増が大きな問題となっており、本邦においても呼吸器感染症の主要起炎菌耐性化が急速に進んでいる。本研究では肺炎球菌やおよびインフルエンザ桿菌の薬剤感受性の推移、血清型の分布、薬剤耐性株の遺伝子変異パターンの検討を行った。

B 研究方法

1. A(H1N1)pdm09のウイルス学的特徴、臨床的特徴および病態について研究を行った。2009-10シーズンは、国内6県、2010-11シーズンは7県の医療機関の外来を受診したインフルエンザ様疾患を呈する初診患者から呼吸器関連検体を採取し、培養検体からRNA抽出、cDNA合成を行いリアルタイムPCRで型・亜型判定(A/H1N1pdm, A/H3N2, B)を行った。流行ウイルス株の特徴を、ヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)遺伝子配列をシーケンスし、ウイルス系樹解析により分析した。病態に関与する宿主遺伝子を検討するため、AH12009pdmに感染し、肺炎を発症した群(肺炎群)とインフルエンザ症状のみで治癒した群(コントロール群)について発症時及び回復期においてDNAマイクロアレイ法を用いて網羅的に宿主の遺伝子発現を調べた。経鼻インフルエンザワクチンにより誘導される交叉免疫応答を検討するため、ワクチン接種後の血清中の中和抗体、気道粘膜上に分泌されるIgA抗体の中和反応及び交叉防御能について検討した。
2. ウイルスの病態に関与する遺伝子を検討するため、軽症患者から分離されたA/California/04/09株、A/Osaka/164/09株(以下、Osaka 164株)、A/Norway/3568/09株の3株、および重症患者から分離されたA/Lviv/N6/09株、A/Norway/3487/09株(以下、Norway3487株)の2株、計5株のA(H1N1)pdm09ウイルスを、reverse genetics法により人工的に作製し、解析を行った。
3. 日本とモンゴルにおいて野鳥の糞便からインフルエンザAウイルスの分離を試み、分離されたウイルスのHAおよびNAの亜型を同定した。ニワトリにおける病原性発現のメカニズムを解析するため、高病原性鳥インフルエンザウイルス Turkey/Italy/4580/1999(H7N1)(IT)株とChicken/Netherlands/2568/2003(H7N7)(NL)株、または低病原性鳥インフルエンザウイルス Chicken/Ibaraki/1/2005(H5N2)(IBK)株をニワトリに経鼻接種し、組織におけるウイルス増殖とサイトカイ

ン応答を追跡した。

4. 新型インフルエンザウイルス発生に対する危機管理体制の構築を計るため、新型インフルエンザの早期検知と同定、流行動向に関して、現行のサーベイランス体制が抱える課題と問題点を整理し、考察した。
5. インフルエンザやRSウイルスなどの気道上皮への感染メカニズムを検討するため、ヒト鼻粘膜上皮の初代培養細胞に、hTERT遺伝子を導入し継代可能な細胞としたのちに、RSウイルスを感染させ鼻粘膜細胞におけるRSウイルス感染の成立と、粘膜における増殖について検討した。
6. 有効なRSウイルスワクチンの開発のために、ホルマリン不活化ワクチン(FI-RSV)によるワクチン予防の失敗原因について検討した。
7. インフルエンザ後二次性肺炎マウスモデルを構築し、二次性肺炎の発症に関与する新規宿主および細菌因子の探索を行った。
8. 肺炎球菌およびインフルエンザ菌の感染機序を抑制する治療方法の可能性について検討するとともに、乳幼児における感染症予防法について、母親マウスに免疫を行う母体免疫による、肺炎球菌感染予防効果について検討した。
9. 7価肺炎球菌ワクチン(PCV7)導入の影響と今後の課題を明確にするために、小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の血清型を解析した。
10. ウェスタンブロッティングと質量分析計によるタンパク同定を組み合わせた方法による肺炎球菌の細胞表面に存在する新しいワクチン抗原候補となりうるタンパクの迅速スクリーニング法を検討した。
11. インフルエンザ菌の薬剤感受性の変動と伝播様式を検討するため、中国における市中気道感染症由来のインフルエンザ菌の血清型別、薬剤感受性、耐性遺伝子およびパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)などの解析を行った。

C 結果

本研究はインフルエンザを中心としたウイル

ス感染症と薬剤耐性化が急速に進行している気道細菌感染症を研究課題としており、結果を大きく2つにまとめて述べる。

1) ウイルス感染症

① A(H1N1)pdm09)インフルエンザにおいて小児を中心に重症のウイルス性肺炎が多発した。このウイルス性肺炎の多発は従来の季節性インフルエンザでは全く認められず、A(H1N1)pdm09)インフルエンザ(新型インフルエンザ)の大きな特徴であった。インフルエンザの病態解析では、DNA マイクロアレイを用いた急性期宿主側遺伝子発現の解析により、CNTNAP3、IgE、SOD2などの遺伝子発現が急性期に増強していることが判明した。一方、肺炎を発症しなかった群ではこれらの傾向は認められなかった。興味深いことに、これらの特徴はH5N1高病原性鳥インフルエンザヒト重症例の特徴とよく一致していた。

② 高病原性鳥インフルエンザウイルスの宿主の組織における増殖とサイトカインmRNAの発現量の検討では、両者の間に顕著な相関を認め、全身組織における高病原性鳥インフルエンザウイルスの急激な増殖によって誘導されるサイトカインの過剰応答が血管障害を引き起こす結果、多臓器不全によってニワトリは斃死することを示唆した。

③ インフルエンザウイルスの病原性解析では、病原性が高いOsaka164株のポリメラーゼタンパク質(PB1,PB2)において、PB2の649番目とPB1の667番目、またはPB2の340番目とPB1の667番目アミノ酸の組合せにより、マウスでの致死率が親株より高くなることが明らかとなった。本研究により、A(H1N1)pdm09 ウイルスについて、これらのアミノ酸が新規のウイルス側の病原性発現因子であること、そして、遺伝子交雑により、より病原性の強いウイルスが出現する可能性が示唆された。

④ インフルエンザウイルスの継続的なサーベイランスでは、2009-2010年シーズンはA/H1N1pdmのみの流行であったが、2010-

2011年はA(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B型の混合流行であった。薬剤耐性ウイルスについては、2010-2011年のポストパンデミックのシーズンでは、オセルタミビル耐性であるH275Y変異を有する株の頻度は低かった(0.5%)。前年度はこの変異を持つ株は検出されていなかったことから、今後も耐性モニタリングを継続する必要があると考えられた。

⑤ 経鼻インフルエンザワクチンをヒトに接種した場合誘導される粘膜IgA抗体の検討では、IgA本来の交叉防御能に加え過去の感染歴やワクチン接種歴によって過去においてプライミングされた免疫が類似抗原の経鼻接種によって誘導されることがあきらかとなった。また感染によって受けたプライミングに対しては強く免疫応答を誘導する一方でワクチン抗原に対しては比較的低い応答となる事(抗原原罪)が経鼻インフルエンザワクチン接種時にも存在する事が明らかとなった。

⑥ RSウイルスの気道粘膜における感染機序の検討では、ヒト正常鼻粘膜にhTERT遺伝子を導入することで、細胞の性格を大きく変化させずに、その寿命を延長することができ、さらにその細胞はRSウイルスに良好な感受性を示した。RSウイルスの感染に対し粘膜上皮のタイト結合は防御的に作用したが、これは単純なバリア機能の増強によるものではなく、タイト結合がウイルスを取り込む機序をapical側に限定することによると考えられた。

⑦ ホルマリン不活化ワクチン(FI-RSV)によりRSウイルス感染を防御できずかえって重症化する原因の検討では、FI-RSV免疫群では炎症性細胞浸潤と著明な間質性肺炎の所見を認めIL-4、IL-10、IL-13などのTh2サイトカインとRANTESのmRNAが上昇した。RSV Fタンパク遺伝子を導入した組換え麻疹ウイルスMVAIK/RS F、ヒト型単抗体(シナジス)投与群は軽度の間質性肺炎を示した。MVAIK/RS F接種群ではIL-1 β 、IFN- γ のTh1サイトカイン

の産生とともに IL-4 も増加していた。Flu-RSV は Th2 に偏った免疫応答を誘導するが MVAIK/RSV は Th1 応答も誘導しシナジスと同等の感染防御を示した。

- ⑧ モンゴルで流行しているアデノウイルスの血清型を明らかにするため、インフルエンザサーベイランス定点より採取した検体よりアデノウイルスの検出を行ったところ、2010年1月から2011年の5月の観察期間中、スクリーニングを行った1,950検体のうち40検体（2.1%）からアデノウイルスが検出された。塩基配列解読を行うことができた31検体の解析結果より、7つの異なる血清型（HAdV-C1：3検体、-C2：4検体、-B3：5検体、-C5：3検体、-C6：1検体、-B7：10検体、-D8：5検体）が流行していたことがわかった。

2) 細菌感染症

- ① インフルエンザ後二次性肺炎の発症に関与する新規宿主および細菌因子の検討では、マウスにインフルエンザウイルスを経鼻感染させ、5日後に肺炎球菌を経鼻感染させると、二次感染マウス群で有意な生存率の低下がみられ、ウイルス感染後に易感染性になることが確認できた。また二次感染マウス群では肺炎球菌感染後に肺内菌数の増加と菌血症がみられたが、肺炎球菌単独感染マウス群では、肺内菌数の増加および菌血症はほとんどみられなかった。インフルエンザウイルスおよび肺炎球菌感染後のマウスの肺における遺伝子発現を網羅的に検討したところ、IL-6、TNF- α 、I型インターフェロン、インターフェロン- γ 、Mip2などのサイトカイン/ケモカインの発現が二次感染ウイルスにおいて有意に上昇していた。
- ② 肺炎球菌およびインフルエンザ菌の感染機序と新たな治療法の検討では、急性中耳炎の鼻咽腔では付着に適した Transparent 型が優位であるのに対して、中耳貯留液中では殺菌作用に抵抗を示す Opaque 型が優位に検出された。さらにクラリスロマイシ

ンが Sub-MIC 濃度で肺炎球菌のフェーズ変化を抑制し、Transparent 型株優位に変化させることが判明した。一方、インフルエンザ菌のバイオフィーム形成に対しては、 β ラクタム薬ではバイオフィーム内細菌の殺菌作用、およびバイオフィーム量減量効果が不良であるのに対してマクロライド系、キノロン系の抗菌薬では抗バイオフィーム効果が良好であった。上気道感染症の効果的な予防法の確立においては、母体経鼻免疫により、肺炎球菌特異的移行抗体を誘導し、乳幼児期に特異的免疫応答を誘導することができた。

- ③ 7価肺炎球菌ワクチン（PCV7）導入の影響の検討では、PCV7導入前の小児肺炎症例から分離される肺炎球菌の66.7%がPCV7に含まれる血清型であった。気道感染患者からは、PCV7既接種者においてもPCV7に含まれる血清型が多数分離された。また、PCV7導入後1年足らずで、6CなどPCV7に含まれない血清型の肺炎球菌が、PCV7既接種気道感染症患者から多く分離された。80%以上の高いPCV7接種率の保育園での保菌調査では、肺炎球菌の保菌者は減少していた。PCV7に含まれない血清型の肺炎球菌がワクチン接種児の分離菌の主体となっていた。
- ④ 肺炎球菌の細胞表面に存在しヒトにおいて抗体産生を誘発するタンパクを、ウェスタンブロッティングと質量分析によるタンパク同定法を組み合わせるスクリーニングする方法を開発し、これまでに抗原性についての評価がなされていなかったコリン結合性タンパク（PcpA 及び PspC）、Clp プロテアーゼファミリー（ClpB、ClpC、及び ClpE）、及び機能未知分泌タンパク “Secreted 45 kDa protein” を新たに検出した。
- ⑤ 中国、上海市（11ヶ所の市中病院）における市中気道感染症の細菌学的検討では、外来患者37名から37株の *H. influenzae* が分離され、その内 β -lactamase-nonproducing ampicillin-sensitive (BLNAS) *H. influenzae*

は16株 (43.24%)、 β -lactamase-producing ampicillin-resistant (BLPAR) *H. influenzae* (TEM-1) は10株 (27.03%)、Low- β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant (BLNAR) *H. influenzae* は11株 (29.73%) であったが、BLNAR 株は分離されなかった。また、血清型解析では b 型株は2株 (5.41%) で、nontypeable 株は30株 (81.1%) であった。

D・E 考察とまとめ

本研究は年 1 回開催される日米医学協力研究 ARI 部会と連携し活動した (2011年11月和歌山開催)。

Pandemic A(H1N1)2009 (以下 A(H1N1)pdm09) インフルエンザについては、本研究組織の特徴であるウイルス学および細菌学の ARI 分野の基礎・臨床の研究者が協力して、疫学的データの集積・特徴的な臨床像の解析、病態の解明、ウイルスと細菌の重複感染による重症化、変異と薬剤耐性、ワクチンによる予防と新しい予防手段の開発について検討をすすめた。一方、A(H1N1)以外の新たな「新型インフルエンザ」の登場や、東南アジアをはじめ全世界で蔓延し、ヒトにおける発生からパンデミックへの危険性が高まっている A(H5N1) 高病原性鳥インフルエンザのモニタリングも非常に重要と考え、新たな「新型インフルエンザ」の可能性や薬剤耐性ウイルスの出現について検討した。

一方、急性呼吸器感染症の主要原因菌である肺炎球菌およびインフルエンザ菌の莢膜の変化やバイオフィルム産生による病態の遷延化が解明され、2010年から日本で接種が開始された7価肺炎球菌ワクチンによる小児気道感染症への影響も検討された。ワクチン導入後の影響については、導入後すでに10年を経過している米国研究者との交流により、詳細な成績も紹介され、ワクチンの有効性と課題が明らかとなった。

以下に具体的な研究成果を示す。

1. ウイルス感染症 インフルエンザ

A(H1N1)pdm09 インフルエンザにおいて小

児を中心に重症のウイルス性肺炎が多発し、推定で15歳未満の肺炎による入院は約 1 万人と多数に上った。しかし、その中で重症肺炎 (肺炎・酸素の使用・1 週間以上の入院) は400例と少なく、わが国のインフルエンザ診療が適切に行われたと考えられた。このウイルス性肺炎の多発は従来の季節性インフルエンザでは全く認められず、A(H1N1)pdm09 インフルエンザ (新型インフルエンザ) の大きな特徴であった。

インフルエンザの病態解析では、重症肺炎例で急性期に CNTNAP3、IgE、SOD2 などの遺伝子発現が増強していることが判明し、肺炎を発症しなかった群ではこれらの傾向は認められなかった。興味深いことに、これらの特徴は H5N1 高病原性鳥インフルエンザ ヒト重症例の特徴とよく一致していた。さらに高病原性鳥インフルエンザウイルスの宿主の組織における増殖とサイトカイン mRNA の発現量の検討では、両者の間に顕著な相関を認め、全身組織における高病原性鳥インフルエンザウイルスの急激な増殖によって誘導されるサイトカインの過剰応答が血管障害を引き起こす結果、多臓器不全によってニワトリは斃死することを示唆した。このようなヒトと動物のインフルエンザにおける病態の解明によって、予防、診断および治療法の開発に有用な知見が得られ、今後病原性の高い「新型インフルエンザ」に対する治療法の確立のうえで重要な知見と考えられた。

インフルエンザウイルスの病原性解析では、病原性が高い Osaka164 株のポリメラーゼタンパク質 (PB1, PB2) において、PB2 の 649 番目と PB1 の 667 番目、または PB2 の 340 番目と PB1 の 667 番目 アミノ酸の組合せにより、マウスでの致死率が親株より高くなることが明らかとなった。本研究により、A(H1N1)pdm09 ウイルスについて、これらのアミノ酸が新規のウイルス側の病原性発現因子であること、そして、遺伝子交雑により、より病原性の強いウイルスが出現する可能性が示唆された。

継続的なサーベイランスでは、2009-2010 年シーズンは A/H1N1pdm のみの流行であったが、2010-2011 年は A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 型の混合流行であった。薬剤耐性ウイルスに

については、2010-2011年のポストパンデミックのシーズンでは、オセルタミビル耐性であるH275Y 変異を有する株の頻度は低かった（0.5%）。しかし、前年度はこの変異を持つ株は検出されていなかったことから、今後も耐性モニタリングを継続する必要があると考えられた。

新型インフルエンザ発生に迅速に対応するための危機管理対策の一環として、新型ウイルスを早期かつ的確に検知できる病原体サーベイランス体制を構築しておくことが必要である。すなわち、新型インフルエンザによる被害を最小限にとどめるためには、その発生をいち早く捉える必要がある。しかし、病原体サーベイランス事業を利用した現在の新型インフルエンザ早期検知システムは、国内に侵入、発生した新型インフルエンザを迅速に検知できず見逃す懸念があり、特にブタのインフルエンザを対象にしたサーベイランスは不備が多く十分に機能していないことが判明した。現監視システムの強化や新たな監視システムの構築が必要である。

RS ウイルス・アデノウイルス

ホルマリン不活化ワクチン（FI-RSV）は感染防御能が認められず RSV に感染すると重症化する原因として Th2 に偏った免疫応答が原因の一つとして考えられている。組換えウイルス MVAIK/RSV F 免疫群では Th1 サイトカインの誘導が観察され Th2 とのバランスのとれた免疫を誘導することが判明し、有効なワクチン候補と考えられる。RS ウイルス感染防御に関するヒト鼻粘膜のタイト結合は RS ウイルス感染に対して防御的に働くことが判明し、タイト結合を強化するような予防の可能性が提唱された。モンゴルにおけるアデノウイルスのサーベイランスでは、重症肺炎を来す HAdV-B7 が多く検出されており、今後も ILI を来す主要ウイルスとして HAdV 各血清型の公衆衛生学的インパクトを量る必要性が指摘された。

2. 細菌感染症

インフルエンザと細菌の重複感染

季節性インフルエンザやパンデミックインフ

ルエンザ時にみられる二次性細菌性肺炎はしばしば重症化し、肺炎球菌はその主要な原因菌である。実際に、1918年のスペイン風邪や2009年のH1N1によるパンデミックにおける重症例において肺炎球菌による二次性肺炎が報告されている。二次感染マウスモデルでは、有意なマウス生存率の低下、肺内菌数の上昇、菌血症がみられた。さらに肺組織の検討を行ったところ、二次感染マウスにおいて広範囲における肺内好中球の浸潤が観察された。また二次感染マウスにおいて TNF- α 、IL-6などの炎症性サイトカインおよび IFN- γ 、I 型 IFN、IL-10などの発現が有意に上昇していた。さらに哺乳類における主要な抗菌ペプチドファミリーの1つであるカテリシジンの肺における発現が有意に低下していた。このように重複感染の重症化において宿主側因子の関与が強く示唆された。

肺炎球菌、インフルエンザ菌の病原性

気道感染症において重要な起炎菌である肺炎球菌およびインフルエンザ菌は、薬剤耐性株の急増のみならず、莢膜のフェーズ変化やバイオフィーム産生などの巧妙な感染機序により、宿主の感染防御能および抗菌薬殺菌作用より逃れていることが判明した。本研究ではこれらの感染機序を視野に入れた治療法の可能性が示された。すなわち、マクロライド系抗菌薬であるクラリスロマイシンが Sub-MIC 濃度で肺炎球菌のフェーズ変化を抑制し、病原性の低い Transparent 型株優位に変化させることが判明した。一方、インフルエンザ菌のバイオフィーム形成に対しては、 β ラクタム薬ではバイオフィーム内細菌の殺菌作用、およびバイオフィーム量減量効果が不良であるのに対して、マクロライド系、キノロン系の抗菌薬では抗バイオフィーム効果が良好であった。これらのバイオフィーム抑制作用は抗菌薬暴露時間によらず、バイオフィーム形成の早期での抗菌薬暴露が重要であることが判明した。以上より、難治化する気道感染には、起炎菌の巧妙な感染機序も関与しており、これら起炎菌の感染機序を標的として既存の抗菌薬を効果的に使うことでより臨床効果が得られる可能性が示唆された。

母体免疫による乳幼児期の感染予防

上気道感染症の効果的な予防法の確立においては、乳幼児期は母体からの胎盤移行抗体および母乳を介した免疫補助から、宿主自体による免疫応答への発育移行期であり、肺炎球菌感染症の好発時期でもある。母体経鼻免疫により、肺炎球菌特異的移行抗体を誘導することにより免疫能の未熟な乳幼児期に特異的免疫応答を誘導することができ、肺炎球菌の鼻腔定着、肺炎および全身感染に対する効果的な予防方法となると考えられた。

7 価肺炎球菌ワクチン（PCV7）導入前後の小児気道感染症の変化と新しいワクチン候補の探索

PCV7導入前の肺炎球菌性肺炎の主体は、PCV7含有血清型であり、PCV7の導入効果が期待された。PCV7導入後の気道感染患者からは、PCV7既接種者においてもPCV7に含まれる血清型が多数分離された。しかし、PCV7導入後1年足らずで、6CなどPCV7に含まれない血清型の肺炎球菌が、PCV7既接種気道感染症患者から多く分離されたことから、PCV7導入後の気道からの分離菌の血清型調査を継続的に行っていく必要性が示されたが、併せて、新しい肺炎球菌ワクチンの抗原になりうる分子を探索する技術の開発も必須である。本研究では、ウェスタンブロッティングと質量分析によるタンパク同定法を組み合わせ、肺炎球菌の細胞表面に存在しヒトにおいて抗体産生を誘発するタンパクをスクリーニングする方法を開発し、将来のワクチン候補の探索の方向性を示すことができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakabe S, Ozawa M, Takano R, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y. Mutations in PA, NP, and HA contribute to adaptation of a pandemic (H1N1) 2009 influenza virus to mice. *Virus Res* 158 : 124-129, 2011.
- 2) Ainai, A., Tashiro, M., Hasegawa, H., :

Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. *Human vaccines* 7 Suppl, 174-182. 2011

- 3) Ampofo, W.K., Baylor, N., Cobey, S., Cox, N.J., Daves, S., Edwards, S., Ferguson, N., Grohmann, G., Hay, A., Katz, J., Kullabutr, K., Lambert, L., Levandowski, R., Mishra, A.C., Monto, A., Siqueira, M., Tashiro, M., Waddell, A.L., Wairagkar, N., Wood, J., Zambon, M., Zhang, W., Improving influenzavaccine virus selection Report of a WHO informal consultation held at WHO headquarters, Geneva, Switzerland, 14-16 June 2010. *Influenza and other respiratory viruses*. DOI : 10.1111/j.1750-2659.2011.00277
- 4) Featherstone, D.A., Rota, P.A., Icenogle, J., Mulders, M.N., Jee, Y., Ahmed, H., de Filippis, A.M., Ramamurty, N., Gavrilin, E., Byabamazima, C., Dosseh, A., Xu, W., Komase, K., Tashiro, M., Brown, D., Bellini, W.J., Strebel, P., : Expansion of the global measles and rubella laboratory network 2005-09. *The Journal of infectious diseases* 204 Suppl 1, S491-498. 2011
- 5) Fujitsuka, A., Tsukagoshi, H., Arakawa, M., Goto-Sugai, K., Ryo, A., Okayama, Y., Mizuta, K., Nishina, A., Yoshizumi, M., Kaburagi, Y., Noda, M., Tashiro, M., Okabe, N., Mori, M., Yokota, S., Kimura, H., : A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness. *BMC infectious diseases* 11, (168).1471-2334, 2011
- 6) Harada, Y., Ninomiya-Mori, A., Takahashi, Y., Shirakura, M., Kishida, N., Kageyama, T., Tada, Y., Tashiro, M., Odagiri, T., : Inactivated and adjuvanted whole-virion clade 2.3.4 H5N1 pre-pandemic influenza vaccine possesses broad protective efficacy

- against infection by heterologous clades of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in mice. *Vaccine* 29, 8330-8337. 2011
- 7) Hurt, A.C., Chotpitayasunondh, T., Cox, N.J., Daniels, R., Fry, A.M., Gubareva, L.V., Hayden, F.G., Hui, D.S., Hungnes, O., Lackenby, A., Lim, W., Meijer, A., Penn, C., Tashiro, M., Uyeki, T.M., Zambon, M., : Antiviral resistance during the 2009 influenza A H1N1 pandemic : public health, laboratory, and clinical perspectives. *The Lancet infectious diseases*. Dis.doi : 10.1016/S1473-3099(11)70318-8, 2011
 - 8) Ikeno, D., Kimachi, K., Ibaragi, K., Kudo, Y., Goto, S., Odoh, K., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Kino, Y., : Differences in the priming effect of various clades/subclades of inactivated H5N1 vaccine for booster injection with heterologous clades of vaccine strains. *Vaccine* 29, 4156-4161. 2011
 - 9) Nakauchi, M., Ujike, M., Obuchi, M., Takashita, E., Takayama, I., Ejima, M., Oba, K., Konomi, N., Odagiri, T., Tashiro, M., Kageyama, T., : Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. *Journal of medical virology* 83,1121-1127.2011
 - 10) Nakauchi, M., Yasui, Y., Miyoshi, T., Minagawa, H., Tanaka, T., Tashiro, M., Kageyama, T., : One-step real-time reverse transcription-PCR assays for detecting and subtyping pandemic influenza A/H1N1 2009, seasonal influenza A/H1N1, and seasonal influenza A/H3N2 viruses. *Journal of virological methods* 171, 156-162. 2011
 - 11) Nakauchi, M., Yoshikawa, T., Nakai, H., Sugata, K., Yoshikawa, A., Asano, Y., Ihira, M., Tashiro, M., Kageyama, T., : Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. *Journal of medical virology* 83, 10-15. 2011
 - 12) Ainai, A., Tamura, S., Suzuki, T., Ito, R., Asanuma, H., Tanimoto, T., Gomi, Y., Manabe, S., Ishikawa, T., Okuno, Y., Odagiri, T., Tashiro, M., Sata, T., Kurata, T., Hasegawa, H., : Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. *Journal of medical virology* 84, 336-344.2012
 - 13) Ujike, M., Ejima, M., Anraku, A., Shimabukuro, K., Obuchi, M., Kishida, N., Hong, X., Takashita, E., Fujisaki, S., Yamashita, K., Horikawa, H., Kato, Y., Oguchi, A., Fujita, N., Tashiro, M., Odagiri, T., : Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009-2010. *Emerging infectious diseases* 17 (3), 470-479. 2011
 - 14) The WHO-ECDC writing committee : Public health implications of oseltamivir resistance emergence in pre-pandemic influenza A(H1N1) viruses during the 2007-2009 seasons *J. Influenza. Resp. Viral Infect* 2011
 - 15) Yanagita, H., Yamamoto, N., Fuji, H., Liu, X., Ogata, M., Yokota, M., Takaku, H., Hasegawa, H., Odagiri, T., Tashiro, M., Hoshino, T., 2012. Mechanism of Drug Resistance of Hemagglutinin of Influenza Virus and Potent Scaffolds Inhibiting Its Function. *ACS chemical biology*.doi.10.1021/cb200332k 2012
 - 16) Shindo, N., Brown, C., Ciancio, B., Cox, N., Daniel, R., Fasce, R., Fukuda, K., Hay, A., Hayden, F., Hungnes, O., Kelso, A., Klimov, A., Kramarz, P., Lina, B., M

- eijer, A., Nicoll, A., Phin, N., Opp, M., Schmaltz, C., Schweiger, B., Tashiro, M., Van der Sande, M., Van der Velden, K., Weber, T., Zambon, M. Public Health Implications of Oseltamivir Resistance : Emergence in Pre - pandemic. Influenza A(H1N1) Viruses during the 2007 - 2009 Seasons. Influenza and other respiratory viruses (2012, in press)
- 17) Ohnishi, K., Takahashi, Y., Kono, N., Nakajima, N., Mizukoshi, F., Misawa, S., Yamamoto, T., Mitsuki, Y., Fu, S., Hirayama, N., Ohshima, M., Ato, M., Kageyama, T., Odagiri, T., Tashiro, M., Kobayashi, K., Itamura, S., Tsunetsugu - Yokota, Y. Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies. *Jpn. J. Infect. Dis.* : 65(1), 19-27, 2012
 - 18) Asanuma, H., Zamri, N.B., Sekine, S., Fukuyama, Y., Tokuhara, D., Gilbert, R. S., Fukuiwa, T., Fujihashi, K., Sata, T., Tashiro, M., Fujihashi, K., : A novel combined adjuvant for nasal delivery elicits mucosal immunity to influenza in aging. *Vaccine* 30, 803-812. 2012
 - 19) Klimov, A. I., Garten, R., Russell, C., Barr, I. G., Besselaar, T. G., Daniels, R., Engelhardt, O.G., Kelso, A., McCauley, J., Odagiri, T., Smith, D., Tashiro, M., Xu, X., Webby, R., Wang, D., Ye, Z., Shu, Y., Zhang, Z., Cox, N. WHO recommendations for the viruses to be used in the 2012 Southern Hemisphere Influenza Season : Epidemiology, antigenic and genetic characteristics of pandemic influenza A(H1N1)pdm09, seasonal A(A(H3N2)) and B influenza viruses. *Vaccine* (2012, in press)
 - 20) Kageyama, T., Shirakura, M., Kishida, N., Nakauchi, M., Obuchi, M., Ujike, M., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M. : Establishment of a diagnostic system for the pandemic influenza A(H1N1) 2009 virus in Japan using conventional and real-time RT-PCR assays. *Jpn. J. Infect. Dis.* (in press, 2012)
 - 21) Zaraket H, Kondo H, Tabet C, Hanna-Wakim R, Suzuki Y, Dbaiho GS, Saito R, Suzuki H. Genetic diversity and antiviral drug resistance of pandemic H1N1 2009 in Lebanon. *J Clin Virol.* Jul;51(3) : 170-4. 2011
 - 22) Yoshida H, Sakoda Y, Endo M, Motoshima M, Yoshino F, Yamamoto N, Okamatsu M, Soejima T, Senba S, Kanda H and Kida H. Evaluation of the Reverse Transcription Loop - Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) as a Screening Method for the Detection of Influenza Viruses in the Fecal Materials of Water Birds. *J Vet Med Sci* 73, 753-758. 2011
 - 23) Yamamoto N, Sakoda Y, Motoshima M, Yoshino F, Soda K, Okamatsu M and Kida H. Characterization of a non - pathogenic H5N1 influenza virus isolated from a migratory duck flying from Siberia in Hokkaido, Japan, in October 2009. *Virology* 438, 65. 2011
 - 24) Soda K, Cheng MC, Yoshida H, Endo M, Lee SH, Okamatsu M, Sakoda Y, Wang CH and Kida H. A Low Pathogenic H5N2 Influenza Virus Isolated in Taiwan Acquired High Pathogenicity by Consecutive Passages in Chickens. *J Vet Med Sci* 73, 767-772. 2011
 - 25) Soda K, Asakura S, Okamatsu M, Sakoda Y and Kida H. H9N2 influenza virus acquires intravenous pathogenicity on the introduction of a pair of di-basic amino acid residues at the cleavage site of the hemagglutinin and consecutive passages in chickens. *Virology* 438, 64. 2011
 - 26) Simulundu E, Ishii A, Igarashi M, Mweene AS, Suzuki Y, Hang'ombe BM, Namangala B, Moonga L, Manzoor R, Ito K, Nakamura

- I, Sawa H, Sugimoto C, Kida H, Simukonda C, Chansa W, Chulu J and Takada A. Characterization of influenza A viruses isolated from wild waterfowl in Zambia. *J Gen Virol* 92, 1416-1427. 2011
- 27) Samad RA, Sakoda Y, Tsuda Y, Simulundu E, Manzoor R, Okamatsu M, Ito K and Kida H. Virological surveillance and phylogenetic analysis of the PB2 genes of influenza viruses isolated from wild water birds flying from their nesting lakes in Siberia to Hokkaido, Japan in autumn. *Jpn J Vet Res* 59, 15-22. 2011
 - 28) Samad RA, Nomura N, Tsuda Y, Manzoor R, Kajihara M, Tomabeche D, Sasaki T, Kokumai N, Ohgitani T, Okamatsu M, Takada A, Sakoda Y and Kida H. A vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 influenza virus strain from the influenza virus library conferred protective immunity to chickens against the challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza virus. *Jpn J Vet Res* 59, 23-29. 2011
 - 29) Sakoda Y, Ito H, Uchida Y, Okamatsu M, Yamamoto N, Soda K, Nomura N, Kuribayashi S, Shichinohe S, Sunden Y, Umemura T, Usui T, Ozaki H, Yamaguchi T, Murase T, Ito T, Saito T, Takada A and Kida H. Reintroduction of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus by migratory water birds, causing poultry outbreaks in 2010-2011 winter season in Japan. *J Gen Virol*, in press. 2011
 - 30) Nomura N, Sakoda Y, Soda K, Okamatsu M and Kida H. An H9N2 Influenza Virus Vaccine Prepared from a Non-Pathogenic Isolate from a Migratory Duck Confers Protective Immunity in Mice against Challenge with an H9N2 Virus Isolated from a Girl in Hong Kong. *J Vet Med Sci*, in press.
 - 31) Nomura N, Sakoda Y, Endo M, Yoshida H, Yamamoto N, Okamatsu M, Sakurai K, Hoang NV, Nguyen LV, Chu HD, Tien TN and Kida H. Characterization of avian influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010. *Arch Virol*, in press.
 - 32) Kajihara M, Matsuno K, Simulundu E, Muramatsu M, Noyori O, Manzoor R, Nakayama E, Igarashi M, Tomabeche D, Yoshida R, Okamatsu M, Sakoda Y, Ito K, Kida H and Takada A. (2011) An H5N1 highly pathogenic avian influenza virus that invaded Japan through waterfowl migration. *Jpn J Vet Res* 59, 89-100.
 - 33) Isoda N, Sakoda Y, Okamatsu M, Tsuda Y and Kida H. Improvement of the H5N1 influenza virus vaccine strain to decrease the pathogenicity in chicken embryos. *Arch Virol* 156, 557-563. 2011
 - 34) Yanagita H, Yamamoto N, Fuji H, Liu X, Ogata M, Yokota M, Takaku H, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Hoshino T. Mechanism of Drug Resistance of Hemagglutinin of Influenza Virus and Potent Scaffolds Inhibiting Its Function. *ACS Chem Biol*. Jan 13. 2012
 - 35) Aina A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. *J Med Virol*. Feb;84(2) : 336-44. 2012
 - 36) Nakao R, Hasegawa H, Ochiai K, Takashiba S, Aina A, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* elicit a mucosal immune response. *PLoS One*. 6(10) : e26163. Epub 2011 Oct 14. 2011
 - 37) Suzuki T, Aina A, Nagata N, Sata T, Sawa H, Hasegawa H. A novel function

- of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. *BiochemBiophys Res Commun.* 414(4) : 719-26. Epub 2011 Oct 6. 2011
- 38) Fukumoto H, Kanno T, Hasegawa H, Katano H. Pathology of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection. *Front Microbiol.* 2 : 175. Epub 2011 Aug 25. 2011
 - 39) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iiduka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasegawa A, Kanaya Y, Oku R, Oya T, Sata T. Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsies with 2009 H1N1 virus infection. *Mod Pathol.* Jan; 25(1) : 1-13. Epub 2011 Aug 26. 2012
 - 40) Meguro S, Tomita M, Katsuki T, Kato K, Oh H, Aina A, Ito R, Takeda S, Kawai T, Atsumi Y, Itoh H, Hasegawa H. Plasma 25-hydroxyvitamin D is independently associated with hemoglobin concentration in male subjects with type 2 diabetes mellitus. *Int J Endocrinol.* 2011 : 362981. Epub 2011 Jun 6. 2011
 - 41) Masaki T, Kojima T, Okabayashi T, Ogasawara N, Ohkuni T, Obata K, Takasawa A, Murata M, Tanaka S, Hirakawa S, Juchimoto J, Ninomiya T, Fujii N, Tsutsumi H, Himi T, Sawada N. A nuclear factor- κ B signaling pathway via protein kinase C δ regulates replication of respiratory syncytial virus in polarized normal human nasal epithelial cells. *Mol Biol Cell.* 22 : 2144-2156, 2011
 - 42) Ji Yi-Xin, Ihara T, Komase K, Nakayama T. Amino acid substitutions in Matrix, Fusion, and Hemagglutinin proteins of wild measles virus for adaptation to Vero cells. *Intervirology* 54, 217-228, 2011.
 - 43) Seki F, Yamada K, Nakatsu Y, Okamura K, Yanagi Y, Nakayama T, Komase K, Takeda M. The SI strain of measles virus derived from a patient with subacute sclerosing panencephalitis possesses typical genome alterations and unique amino acid changes that modulate receptor specificity and reduce membrane fusion activity. *J Virol* 85, 11871-11882, 2011.
 - 44) Fuji N et al. Interruption of the circulation of an indigenous measles genotype and the introduction of other genotypes after a mass vaccination campaign in the Philippines. *J Med Virol.* Aug; 83 (8) : 1424-7. 2011
 - 45) Piao Z, Oma K, Ezoe H, Akeda Y, Tomono K, Oishi K. Comparative effects of toll-like receptor agonists on a low dose PspA intranasal vaccine against fatal pneumococcal pneumonia in mice. *J Vaccines Vaccin* 2 : 1, 2011
 - 46) Kataoka K, Fujihashi K, Oma K, Fukuyama Y, Hollingshead SK, Fukui M, Sekine S, Kawabata S, Ito H, Briles DB, Oishi K. Nasal dendritic cell targeting Flt3 ligand as a safe adjuvant elicits effective protection against fatal pneumococcal pneumonia. *Infect Immun*, 79 : 2819-2828, 2011
 - 47) Kerdsin A, Dejsirilert S, Puangpatra P, Sripakdee S, Chumla K, Boonkerd N, Polwichai P, Tanimura S, Takeuchi D, Nakayama T, Nakamura S, Akeda Y, Gottschalk M, Sawanpanyalert P, Oishi K. Genotypic profile of *Streptococcus suis* serotype 2 and clinical features of infection in humans, Thailand. *Emerg Infect Dis* 17 : 835-842, 2011.
 - 48) Kerdsin A, Dejsirilert S, Sawanpanyalert P, Boonnark A, Noithachang W, Sriyakun D, Simkum S, Chokngam S, Gottschalk M, Akeda Y, Oishi K. Sepsis and spontaneous bacterial peritonitis in Thailand. *Lancet* 378 : 960, 2011
 - 49) Akeda Y, Kodama T, Saito K, Iida T,

- Oishi, K, Honda T. Identification of the *Vibrio parahaemolyticus* Type III secretion system 2-associated chaperone VocC for the T3SS2-specific effector VopC. *FEMS Microbiol Lett* 324 : 156-64, 2011
- 50) Uchida Y, Matsubara K, Wada T, Oishi K, Morio T, Takada H, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukaya T. Recurrent bacterial meningitis by three different pathogens in an isolated asplenic child. *J Infect Chemother* (in press).
- 51) Alonzo MTG, Lacuesta TLV, Dimaano EM, Kurosu T, Suarez LC, Mapua CA, Akeda Y, Matias RR, Kuter DJ, Nagata S, Natividad FF, Oishi K. Platelet apoptosis and apoptotic platelet clearance by macrophages in secondary dengue virus infections. *J Infect Dis* (in press)
- 52) Takeuchi D, Kerdsin A, Pienpringam A, Loetthong P, Samerchea S, Pakkinee Loetthong P, Khamisra K, Wongwan N, Areeratana P, Chiranairadul P, Lertchayanti S, Petcharat S, Yowang A, Chaiwongsaen P, Nakayama T, Yukihiro Akeda Y, Hamada S, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S, Oishi K. Population-based study of *Streptococcus suis* infection in humans in Phayao Province in Northern Thailand. *PLoS ONE* (in press)
- 53) 川上健司、大石和徳. わが国の高齢者に対する肺炎球菌ワクチンの定期接種化は必要か？呼吸と循環. 59 : 1227-1231, 2011.
- 54) 大石和徳. 肺炎球菌ワクチンの3回以降接種の可否. 医事新報. No.4575 60-61, 2011
- 55) Kono M, Hotomi M, Hollingshead SK, Briles DE, Yamanaka N. Maternal immunization with pneumococcal surface protein A protects against pneumococcal infections among derived offspring. *PLoS One*. 6 (10) : e27102. 2011
- 56) Togawa A, Hotomi M, Tamura S, Yamanaka N. Clinical scoring system of acute pharyngotonsillitis. *Adv Otorhinolaryngol*. 72 : 139-41. 2011
- 57) Hotomi M, Kono M, Hollingshead SK, Briles DE, Yamanaka N. Protection of pneumococcal infection by maternal intranasal immunization with pneumococcal surface protein A. *Adv Otorhinolaryngol*. 72 : 121-5. 2011
- 58) Arai J, Hotomi M, Hollingshead SK, Ueno Y, Briles DE, Yamanaka N. *Streptococcus pneumoniae* isolates from middle ear fluid and nasopharynx of children with acute otitis media exhibit phase variation. *J Clin Microbiol*. Apr;49(4) : 1646-9. 2011
- 59) Ito M, Hotomi M, Maruyama Y, Hatano M, Sugimoto H, Yoshizaki T, Yamanaka N. Clonal spread of beta-lactamase-producing amoxicillin-clavulanate-resistant (BLPACR) strains of non-typeable *Haemophilus influenzae* among young children attending a day care in Japan. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. Aug;74(8) : 901-6. 2010
- 60) Ogami M, Hotomi M, Togawa A, Yamanaka N. A comparison of conventional and molecular microbiology in detecting differences in pneumococcal colonization in healthy children and children with upper respiratory illness. *Eur J Pediatr*. Oct;169(10) : 1221-5. 2010
- 61) Hotomi M, Kono M, Togawa A, Arai J, Takei S, Ikeda Y, Ogami M, Murphy TF, Yamanaka N. *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus haemolyticus* in tonsillar cultures of adults with acute pharyngotonsillitis. *Auris Nasus Larynx*. Oct;37(5) : 594-600. 2010
- 62) Tanaka J, Ishiwada N, Wada A, Chang B, Hishiki H, Kurosaki T, Kohno Y. Incidence of childhood pneumonia and serotype and sequence-type distribution in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Japan. *Epidemiol Infect*. 30 : 1-11, 2011
- 63) Hishiki H, Ishiwada N, Fukasawa C, Abe

- K, Hoshino T, Aizawa J, Ishikawa N, Kohno Y. Incidence of bacterial coinfection with respiratory syncytial virus bronchopulmonary infection in pediatric inpatients. *J Infect Chemother.* 17 : 87-90, 2011
- 64) 星野直, 石和田稔彦, 深沢千絵, 永井文栄, 阿部克昭, 会沢治朗, 石川信泰, 本田喜子, 田中純子, 菱木はるか, 河野陽一
- 65) 喀痰より耐性菌が検出された小児細菌性気管支肺感染症の臨床背景に関する検討. *小児感染免疫* 23 ; 251-256, 2011
- 66) Zhou Z, Qin L, Hu B, and Watanabe H. Expression of *Legionella pneumophila* virulence genes under biofilm condition. *Chinese journal of microbiology and immunology* 31(5) : 413-416, 2011.
- 67) Masaki H, Qin L, Zhou Z, Onizuka T, Watanabe K, Hu B, and Watanabe H. A prospective study of intrafamilial transmission and antimicrobial susceptibility for *Moraxella catarrhalis*. *Microbiol Immunol* 55(9) : 599-604, 2011.
- 68) Hara K, Yahara K, Gotoh K, Nakazono Y, Kashiwagi T, Imamura Y, Hamada N, Khositsakulchai W, Sanchai T, Khantawa B, Tharavichitkul P, Maneekarn N, Sirisanthana T, and Watanabe H. Clinical study concerning the relationship between community-acquired pneumonia and viral infection in northern Thailand. *Intern Med*, 50 : 991-998, 2011.
- 69) 柏木孝仁、渡邊浩「久留米大学試験問題プールシステム-Ku-Pool-」久留米コンピュータジャーナル Vol.25., 2011.
2. 学会発表
- 1) Yamasita N, Tsugu M, Nagaoka T, Yashiro M, Saito Y, Fujii Y, Tsukahara H, and Morishima T. Gene Expression Profiling In Patients With Respiratory Or Central Nervous System Manifestations During The 2009 H1N1 Influenza Infection. XV International Congress of Virology, Sep. 16th 2011, Sapporo. 2) Takahashi H, Harada Y, Shimasaki N, Nakamura K, Hamamoto I, Yamamoto N, Odagiri T, Itamura S, Tashiro M : INEFFICIENTABILITY OF LLC-MK2 CELLS IN SUPPORTING THE GROWTH OF INFLUENZA VIRUSES ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS : ANALYSIS OF ADAPTATION OF VIRUSES TO LLC-MK2 CELLS AND UNDERLYING MECHANISM International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, September 2011
- 3) Daput IC, Baranovich T, Suzuki Y, Daput C, Saito R, Suzuki H. CIRCULATION OF HUMAN INFLUENZA VIRUSES IN THE PANDEMIC (2009-2010) AND POST-PANDEMIC (2010-2011) SEASONS IN JAPAN. XV International Congress of Virology. Sapporo, Japan, Sep 11-16, 2011.
- 4) Kuribayashi S, Sakoda Y, Okamatsu M, Umemura T, Kida H. Rapid replication of H7 highly pathogenic avian influenza virus induces hyper expressions of cytokine mRNAs, leading sudden death of chickens. KEYSTONE SYMPOSIA-Pathogenesis of Influenza : Virus-Host Interactions, Hong Kong, 2011
- 5) Shichinohe S, Sakoda Y, Yamamoto N, Okamatsu M, Noda Y, Nomoto Y, Honda T, Takigawa Y, Kida H. Potency of an inactivated avian influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against the challenge with an antigenically drifted virus of clade 2.3.4. KEYSTONE SYMPOSIA-Pathogenesis of Influenza : Virus-Host Interactions, Hong Kong, 2011
- 6) Sakoda Y, Kajihara M, Sugar S, Okamatsu M, Sodnomdarjaa R, Ito K, Takada A, Kida H. H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses have perpetuated at their nesting lakes in Siberia?

KEYSTONE SYMPOSIA-Pathogenesis of Influenza : Virus-Host Interactions, Hong Kong, 2011

- 7) 岡松正敏、伊藤啓史、内田裕子、迫田義博、山本直樹、曾田公輔、笛吹達史、尾崎弘一、山口剛士、村瀬敏之、高田礼人、伊藤壽啓、西藤岳彦、喜田宏 2010-2011年に日本で野鳥から分離された H5N1高病原性鳥インフルエンザウイルス 第152回日本獣医学会学術集会 (2011年、大阪)
- 8) 七戸新太郎、岡松正敏、山本直樹、野田優、野元由佳、瀧川義康、迫田義博、喜田宏 H5N1非病原性鳥インフルエンザウイルスを用いて試製したワクチンの異なる系統のウイルス攻撃に対する効果 第152回日本獣医学会学術集会 (2011年、大阪)
- 9) 日尾野隆大、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 カモの非病原性インフルエンザウイルスがニワトリに感染し増殖する条件 第152回日本獣医学会学術集会 (2011年、大阪)
- 10) Nomura H, Sakoda Y, Endo M, Yoshida H, Yamamoto N, Okamatsu M, Sakurai K, Hoang Van Nam, Nguyen Van Long, Chu Duc Huy, Tien Ngoc Tien, Kida H. Characterization of H9N2 influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)
- 11) Kuribayashi S, Sakoda Y, Okamatsu M, Umemura T, Kida H. Rapid replication of H7 highly pathogenic avian influenza virus induces hyper expression of cytokine mRNA in chickens 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)
- 12) Shichinohe S, Sakoda Y, Yamamoto N, Okamatsu M, Noda Y, Nomoto Y, Honda T, Takigawa Y, Kida H. Potency of an inactivated avian influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against the challenge with an antigenically drifted virus of clade 2.3.4 第59回日本ウイルス

学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)

- 13) Sakoda Y, Ito H, Uchida Y, Saito T, Ito T, Kida H. H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infections in wild birds and poultry in 2010-2011 winter season in Japan 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議 (2011年、札幌)
- 14) 喜田宏. 鳥インフルエンザとパンデミック対策 第59回日本ウイルス学会学術集会、国際微生物学連合2011会議市民公開講座 (2011年、札幌)
- 15) Kuribayashi S, Sakoda Y, Tanaka T, Kawasaki T, Yamamoto N, Isoda N, Tsuda Y, Okamatsu M, Umemura T, Kida H. Brisk growth of H7 highly pathogenic avian influenza virus induces hyper expression of cytokine mRNA in chickens 15th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting (2011年、和歌山)
- 16) Kida H. How to control avian and pandemic influenza 15th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting (2011年、和歌山)
- 17) 長谷川秀樹：成人T細胞性白血病 (ATL) モデルマウスを用いた新規治療法の試み 第100回日本病理学会総会2011年 4月横浜
- 18) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹、熊坂利夫、羽田悟、田中伸哉、笠井孝彦、鄭子文、飯塚利彦、仲里巖、樋野陽子、濱松晶彦、堀尚、田中智之、長谷川章雄、尾矢剛志、佐多徹太郎 2009H1N1パンデミックインフルエンザウイルス感染症20例の臨床病理学的解析 第100回日本病理学会総会 2011年 4月横浜
- 19) Aina A, Ito R, Asanuma H, Suzuki T, Tanimoto T, Odagiri T, Tamura S, Sata T, Tashiro M, Hasegawa H. INTRANASAL ADMINISTRATION OF 2009/10 ANNUAL INFLUENZA VACCINE INDUCE THE