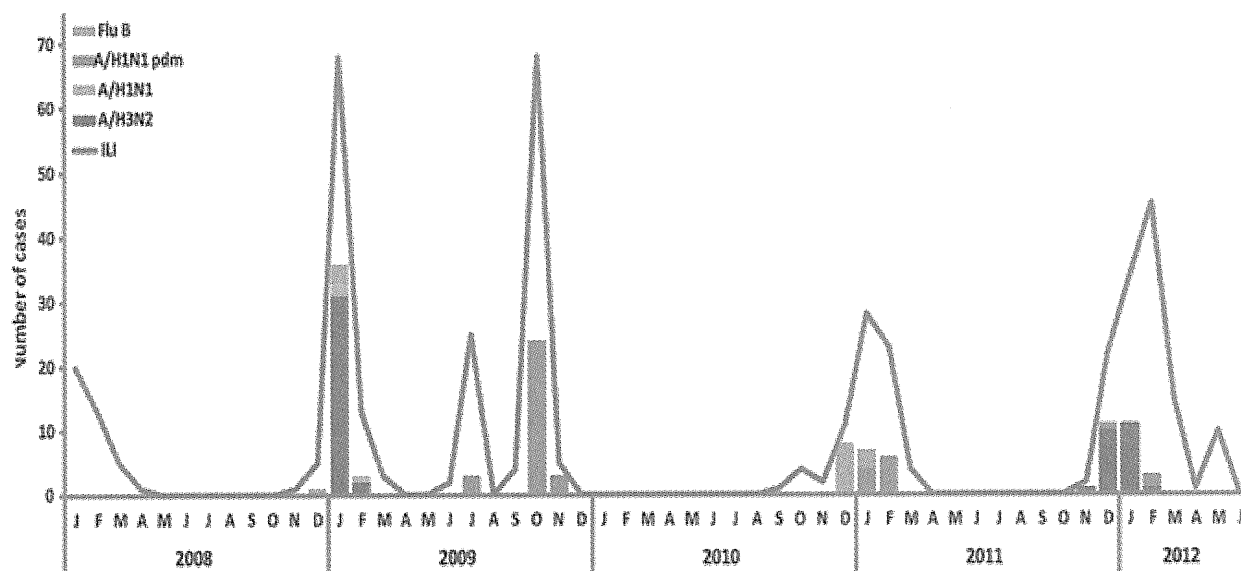


図. 各シーズンにおける季節性インフルエンザと 2009 年のパンデミック 09 H1N1 の流行パターン



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

該当なし

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

（分担）喜田 宏 北海道大学大学院獣医学研究科 動物疾病制御学講座教授

研究要旨： インフルエンザウイルスの自然宿主は野生の水禽であり、ヒトと動物のインフルエンザウイルスの遺伝子の起源は、すべて水禽のウイルスに由来する。よって鳥インフルエンザのサーベイランスはその制圧のための疫学情報のみならず、ヒトのパンデミックウイルスの予測に資する情報を提供する。本研究は、動物インフルエンザのサーベイランスをグローバルに展開し、分離されたウイルスの遺伝子、抗原性および動物に対する病原性を明らかにし、インフルエンザの予防、診断および治療に役立てることを目的とする。2012年は国内、モンゴルおよびベトナムにおいて採取された渡りガモおよびハクチョウの糞便材料および家禽の気管ぬぐい液 8,316検体から165株のインフルエンザウイルスを分離同定した。その結果、北部ベトナムの家禽から分離されたH5N1ウイルスは、北部では近年アジアで分離されているウイルスと同じクレード2.3.2.1に、南部ではベトナムで流行しているウイルスと同じクレード1.1に分類された。さらに分離されたH6およびH9ウイルスのHA遺伝子は中国の家禽から分離されたウイルスのそれと近縁で、ベトナムの家禽の中で遺伝子再集合が頻繁に起きていることが判った。国際連携によってこれらのウイルスの流行を家禽の中で抑える対策を徹底することが喫緊の課題である。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザはアジア地域だけでなく、ヨーロッパ、アフリカ諸国においても発生が報告され、被害が続いている。600例を超えるH5N1亜型のウイルスによるヒトへの感染・死亡例も報告されており、これによるパンデミックが危惧されている。ヒトを含む哺乳動物および鳥類のインフルエンザAウイルスの遺伝子の起源は、カモなどの野生水禽のウイルスである。本研究では、動物インフルエンザのグローバルサーベイランスを継続し、分離同定されたウイルスの抗原性、遺伝子性状および動物に対する病原性を明らかにし、ヒトと動物のインフルエンザの予防、診断および治療法の開発に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

日本、モンゴルおよびベトナムにおいて家禽から採取した気管ぬぐい液および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た。分離されたウイルスのHAおよびNAの亜型を同定した。さらにHAおよび

NAの亜型に基づいてウイルス株を系統保存した。また、これらのウイルス株のHA遺伝子の塩基配列を決定し、推定されるHA開裂部位のアミノ酸配列を解析した。

ベトナムで分離されたH5N1高病原性鳥インフルエンザウイルスおよびH6、H9亜型のウイルスは、遺伝子と抗原性を過去に分離されたウイルスのそれらと比較した。

C. 研究結果

野鳥の糞便8,316検体から165株のインフルエンザウイルスを分離同定した。これらのウイルスのHAはH2からH13の12の亜型に、NAはN1からN9の9つの亜型に区分された。これらの分離ウイルスを当研究室のウイルス株ライブラリー (<http://virusdb.czc.hokudai.ac.jp/>) に追加した。

ベトナムで一見健康なアヒルおよびバリケンから分離されたH5N1高病原性鳥インフルエンザウイルスは、クレード1.1と2.3.2.1に分類された。これら2つのクレードに属するウイルスの抗原性を2004年にベトナムで分離されたH5N1ウイルスの

それと HI 試験で比較したところ、抗原性に大きな差があることがわかった。この抗原変異には家禽に対するワクチン接種が関わっているものと考えられる。さらにベトナムの家禽から分離された H6 ウイルスの HA 遺伝子は全て、中国南部の家禽から分離された H6 ウイルスのそれと近縁で、Group II 亜系統に分類された。これらのウイルスは野生水禽由来の H6 ウイルスとは抗原性が大きく異なっていた。また、H9 ウイルスの HA 遺伝子は、中国南部の家禽から分離された H9 ウイルスのそれと近縁で、Y280 亜系統に分類された。これらのウイルスは、同亜系統の参照株 A/chicken/Hong Kong/G9/1997 (H9N2) と類似する抗原性を示した。さらに、同じ時期に同じ地域で分離された同一亜型のウイルスでも、その内部遺伝子の由来は様々であった。この知見は生鳥市場や農場で遺伝子再集合が頻繁に起こっていることを示している。

D. 考察

ヒトへの感染リスクが考えられるウイルスの流行を家禽の中で抑える対策を国際連携で徹底することが喫緊の課題である。また、サーベイランスで分離される様々な亜型のウイルスとそれらを感染させたときのウイルス増殖と宿主応答を明らかにすることにより、ヒトと動物のインフルエンザの予防、診断および治療法の開発に有用な知見となる。

E. 結論

動物インフルエンザの継続的なグローバルサーベイランスと分離ウイルスの性状解析は、動物とヒトのインフルエンザ対策に有益な情報とウイルス株を得るために重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) Sakoda Y, Ito H, Uchida Y, Okamatsu M, Yamamoto N, Soda K, Nomura N, Kuribayashi S, Shichinohe S, Sundén Y, Umemura T, Usui T, Ozaki H, Yamaguchi T, Murase T, Ito T, Saito T, Takada A and Kida H. (2012) Reintroduction of H5N1 highly patho-

genic avian influenza virus by migratory water birds, causing poultry outbreaks in 2010–2011 winter season in Japan. *J Gen Virol* 93, 541–550.

- (2) Nomura N, Sakoda Y, Soda K, Okamatsu M and Kida H. (2012) 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* 74, 441–447.
- (3) 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. (2012) Characterization of avian influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010. *Arch Virol* 157, 247–257.
- (4) Arikata M, Itoh Y, Okamatsu M, Maeda T, Shiina T, Tanaka K, Suzuki S, Nakayama M, Sakoda Y, Ishigaki H, Takada A, Ishida H, Soda K, Pham VL, Tsuchiya H, Nakamura S, Torii R, Shimizu T, Inoko H, Ohkubo I, Kida H and Ogasawara K. (2012) Memory immune responses against pandemic (H1N1) 2009 influenza virus induced by a whole particle vaccine in cynomolgus monkeys carrying Mafa-A1*052ratio02. *PLoS One* 7, e37220.
- (5) Isoda N, Tsuda Y, Asakura S, Okamatsu M, Sakoda Y and Kida H. (2012) The nucleoprotein is responsible for interacerebral pathogenicity of A/duck/Mongolia/47/2001 (H7N1) in chicks. *Arch Virol* 157, 2257–2264.
- (6) Kajihara M, Sakoda Y, Soda K, Minari K, Okamatsu M, Takada A and Kida H. (2013) The PB2, PA, HA, NP, and NS genes of a highly pathogenic avian influenza virus A/whooper swan/Mongolia/3/2005 (H5N1) are responsible for pathoge-

- nicity in ducks. *Virology* 10, 45.
- (7) Okamatsu M, Sakoda Y, Hiono T, Yamamoto N and Kida H (2013) Potency of a vaccine prepared from A/swine/Hokkaido/2/1981 (H1N1) against A/Narita/1/2009 (H1N1) pandemic influenza virus strain. *Virology* 10, 47.
- (8) Yamamoto N, Soda K, Sakoda Y, Okamatsu M and Kida H. (2013) Proteins of duck influenza virus responsible for acquisition of pathogenicity in chickens. *Virus Res, in press*.
- (9) Shichinohe S, Okamatsu M, Yamamoto N, Noda Y, Nomoto Y, Honda T, Takikawa N, Sakoda Y and Kida H (2013) Potency of an inactivated influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against a challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza viruses in chickens. *Vet Microbiol*, 164 39-45.
- ## 2. 学会発表
- (1) 「How should we control highly pathogenic avian influenza」Hiroshi Kida, Yoshihiro Sakoda. 8th International Symposium on Avian Influenza (2012, London)
- (2) 「鳥とヒトのインフルエンザ克服を目指して」喜田宏 第86回日本感染症学会総会 (2012年、長崎)
- (3) 「For the control of HPAI and preparedness for pandemic influenza」Hiroshi Kida, Thailand-Japan Conference on Animal Health 2012 (2012, Bangkok)
- (4) 「For the control of highly pathogenic avian Influenza」Hiroshi Kida, The Japan-China International Conference of Virology, Hokkaido University Graduate School of Medicine (2012, Sapporo)
- (5) 「For the control of highly pathogenic avian Influenza」Hiroshi Kida, The 6th International Veterinary Vaccine and Diagnostics Conference (2012, Cairns)
- (6) 「For the control of highly pathogenic avian Influenza and preparedness for pandemic influenza」Hiroshi Kida, 2012 Avian Influenza Prevention and Control Conference (2012, Tansui)
- (7) 「鳥インフルエンザの正体とその克服法」喜田宏 日本食品科学工学会第59回大会 (2012年、札幌)
- (8) 「緊急提言：高病原性H5N1鳥インフルエンザウイルスの根絶作戦」喜田宏 第53回日本熱帯医学会シンポジウム (2012年、帯広)
- (9) 「For the control of highly pathogenic avian influenza and preparedness for pandemic influenza」Hiroshi Kida, The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity (2012, Awaji)
- (10) 「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のカラス、スズメおよびクマネズミに対する病原性」岡松正敏、迫田義博、本橋友里恵、山本直樹、栗林沙弥、喜田宏 第154回日本獣医学会学術集会 (2012年、盛岡)
- (11) 「北海道で分離された牛ウイルス性下痢ウイルス1aおよび1b亜型株の遺伝子と抗原性の解析」安部優里、迫田義博、三津橋和也、田村友和、長島尚史、岡松正敏、長井誠、喜田宏 第154回日本獣医学会学術集会 (2012年、盛岡)
- (12) 「パンデミックインフルエンザにどう備えるか」シンポジウム「When, Where and How? Influenza Pandemic: スペシャリストが考える近未来」喜田宏 第61回日本感染症学会・第59回日本化学療法学会合同学会 (2012年、東京)
- (13) 「ウイルス学の立場から見た“新

- 型”インフルエンザ」，緊急討論
「“新型”インフルエンザからいかに国民を守るか～新型特措法の問題を含めて～」喜田宏 第61回日本感染症学会・第59回日本化学療法学会合同学会（2012年、東京）
- (14) 「H5N1高病原性鳥インフルエンザウイルス(HPAIV)の猖獗をどうする」喜田宏 第60回日本ウイルス学会（2012年、大阪）
- (15) 「非病原性鳥インフルエンザウイルスA/duck/Hokkaido/Vac-1/2004(H5N1)のニワトリに対する病原性獲得に与るウイルス因子の同定」山本直樹、迫田義博、曾田公輔、岡松正敏、喜田宏 第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
- (16) 「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のカラス、スズメおよびクマネズミに対する病原性」岡松正敏、迫田義博、本橋友里恵、山本直樹、栗林沙弥、市川貴也、谷川力、喜田宏 第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
- (17) 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA α 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
- (18) 「ベトナムの家禽から分離されたインフルエンザウイルスの遺伝子と抗抗原性の解析」西達也、岡松正敏、野村直樹、市川貴也、Huy Duc Chu、Long Pham Thanh、Long Van Nguyen、Nam Van Hoang、Tien Ngoc Tien、櫻井健二、迫田義博、喜田宏 第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
- (19) 「豚コレラウイルス非構造蛋白Nproのアミノ酸を置換したウイルスの感染に対する豚の自然免疫応答と病原性の解析」田村友和、長島尚史、山本直樹、岡松正敏、Nicolas Ruggli、迫田義博、喜田宏 第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
- (20) 「豚コレラウイルスの豚における増殖とサイトカイン応答」長島尚史、迫田義博、田村友和、山本直樹、岡松正敏、Nicolas Ruggli、喜田宏 第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
- (21) 「Points for the control of HPAI and preparedness for pandemic influenza」Hiroshi Kida, 2012 Japan, USA and Taiwan Joint Conference on Avian Influenza Prevention and Control, Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan（2012, Taipei）
- (22) 「For the control of highly pathogenic avian and pandemic influenza」Hiroshi Kida, The 17th FAVA Congress（2013, Taipei）
- (23) 「ニワトリのインフルエンザウイルスはニワトリ気管上皮に発現するフコシル化 α 2,3シアル酸糖鎖をレセプターとして認識する」日尾野隆大、岡松正敏、西原祥子、高瀬明、迫田義博、喜田宏 2nd NSV-J（2013年、沖縄）
- (24) 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA α 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 2nd NSV-J（2013年、沖縄）
- (25) 「Susceptibility of jungle crows (*Corvus macrorhynchos*), sparrows (*Passer montanus*), and black rats (*Rattus rattus*) to infection with influenza A/whooper swan/Hokkaido/4/2011 (H5N1)」Masatoshi Okamoto, Yoshihiro Sakoda, Yur

- ie Motohashi, Naoki Yamamoto, Sa ya Kuribayashi, Takaya Ichikawa, Hiroshi Kida, The 4th International Young Researcher Seminar in Zoonosis Control (2012, Sapporo)
- (26) 「ニワトリのインフルエンザウイルスはニワトリ気管上皮に発現するフコシル化 α 2,3シアル酸糖鎖をレセプターとして認識する」日尾野隆大、岡松正敏、西原祥子、高瀬明、迫田義博、喜田宏 第155回日本獣医学学会学術集会 (2013年、東京)
- (27) 「タイで分離されたEND陰性豚コレラウイルスの遺伝子と病原性の解析」迫田義博、三津橋和也、田村友和、長島尚史、岡松正敏、Ruggli Nicolas、Parchariyanon Sugira、Pinyochon Wasana、喜田宏 第155回日本獣医学学会学術集会 (2013年、東京)
- (28) 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA α 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 第155回日本獣医学学会学術集会 (2013年、東京)
- (29) 「ベトナムの家禽から分離されたインフルエンザウイルスの遺伝子と抗原性の解析」西達也、岡松正敏、野村直樹、市川貴也、Huy Duc Chu、Long Pham Thanh、Long Van Nguyen、Nam Van Hoang、Tien Ngoc Tien、櫻井健二、迫田義博、喜田宏 感染症若手フォーラム (2013年、北広島)
- (30) 「北海道で分離された牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子と抗原性の解析」安部優里、迫田義博、田村友和、長井誠、岡松正敏、喜田宏 感染症若手フォーラム (2013年、北広島)
- (31) 「低病原性鳥インフルエンザウイルスのニワトリに対する病原性獲得メカニズム」市川貴也、迫田義博、丸山隼輝、日尾野隆大、曾田公輔、岡松正敏、喜田宏 感染症若手フォーラム2013 (2013年、北広島)
- G. 知的財産の出願、登録状況
予定なし。

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

研究分担者：長谷川 秀樹（国立感染症研究所感染病理部）

研究協力者：相内 章（国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター）

研究要旨：経鼻インフルエンザワクチンは感染の場となる気道粘膜に分泌型 IgA に代表される粘膜免疫を誘導し感染防御しさらにその交叉防御能により変異ウイルスに対しても予防効果がある事特徴である。本研究では季節性インフルエンザ H3N2 に対する経鼻インフルエンザワクチン接種後のヒトの鼻腔洗浄液及び血清に誘導されるワクチン株と異なる過去の流行株であるウイルス株に対する中和抗体価を検討した。

A. 研究目的

経鼻インフルエンザワクチンにより、現行の皮下接種ワクチンで誘導される血中 IgG 抗体に加え、気道粘膜領域に分泌型 IgA 抗体に代表される粘膜免疫応答が誘導され、感染自体を防ぐことが可能となる。さらに、分泌型 IgA 抗体は交叉防御能が非常に高いため、同じ亜型であれば抗原性の異なる変異株の防御も可能である。したがって、毎年流行を繰り返す季節性インフルエンザや新型インフルエンザウイルスのパンデミックに対する新しいワクチンとして注目され、実用化が待たれている。経鼻インフルエンザワクチンの交叉防御免疫の誘導に関してはマウスを用いた実験で示されてきており皮下接種インフルエンザワクチンと比較し変異株に対し広く防御効果が有る事を示されてきた。しかし経鼻インフルエンザワクチンのヒトへの接種で鼻腔粘膜上に交叉防御能をもつ粘膜免疫が誘導されるかどうかは明らかになっていなかった。そこで本研究では、経鼻インフルエンザワクチンのヒトでの有効性に関して特に交叉防御効果について明らかにすることを目的としてワクチン株とは異なるウ

イルス株に対する鼻腔洗浄液と血清に誘導される中和抗体価を測定し解析を行った。

B. 研究方法

材料と方法：

1) ワクチン接種

健康人ボランティア 50 名（22～68 歳、男性 36 名、女性 14 名）に対して、A/Victoria/210/09 (H3N2) ウイルス全粒子不活化ワクチン（阪大微生物病研究会より提供）を片鼻 250 μ l ずつ（計 500 μ l）、3 週間間隔で 2 回の経鼻接種を実施した。現行ワクチンは、亜型毎に 15 μ g のヘマグルチニン（HA）を含む（各亜型 HA 15 μ g/接種）が、使用した全粒子不活化ワクチンには A/Victoria/210/09 株に関してのみ 3 倍量の HA が含まれる（45 μ g HA/500 μ l 接種）。A/Victoria/210/09 株は、2010/11 シーズン季節性インフルエンザワクチンに含まれる株の一つである。なお、本実験スケジュールは、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認を得た上で実施した。

2) 採材とサンプル調製

ワクチン接種開始より 3 週間毎に採血と鼻腔洗浄液の回収を行った。鼻腔洗浄液は、市販の鼻うがい器具を用い、生理食塩水にて洗浄することにより回収した。回収した鼻腔洗浄液から粗雑物の除去を行い、次いで遠心型濃縮チューブ (Vivaspin) を用い濃縮した。この方法により回収された鼻腔洗浄液は、総タンパク質量を 1 mg/ml に調製した場合に、生理的条件下にある鼻腔粘膜 IgA 抗体量 (約 2.21 mg/ml) の 1/10 量が含まれることが明らかになっている (Kuroono et al., *Ann Otol Rhinol Laryngol* 96(4):419-424, 1987; Aina et al., *J Med Virol.* 84(2):336-44, 2012)。したがって、総タンパク質量を 1 mg/ml に調製した鼻腔洗浄液を用い以下の測定を行った。

3) 中和抗体価の測定

中和抗体価の測定は、マイクロ中和試験により行った。RDE 処理を行った血清あるいは鼻腔洗浄液の段階希釈系列を調製し、100 TCID₅₀ (50%組織培養感染量の 100 倍量) のウイルス液と混合後、30 分間インキュベーションした。その後、この混合液を MDCK 細胞に添加し 4 日間培養を行い、顕微鏡下でインフルエンザウイルスによる細胞変性効果が確認できないサンプル最大希釈倍率の逆数を中和抗体価とした。なおサンプルは、血清は 1/10 倍希釈からの 2 倍希釈系列、鼻腔洗浄液は 1/20 倍希釈相当液からの 2 倍希釈系列である。

C. 研究結果

健常人ボランティア 50 名に対して、A/Victoria /210/09 の全粒子不活化ワクチンを 3 週間間隔で 2 回の経鼻接種 (45 µg HA/500 µl 接種) を実施した。1 回目ワクチン接種直

前 (0 w)、2 回目ワクチン接種直前 (3 w)、および 2 回目ワクチン接種 3 週間後 (6 w) に血清と鼻腔洗浄液を回収し、各サンプルにおけるワクチン株とは異なるインフルエンザウイルス A/Sydney/05/97 に対する中和抗体価の測定を行った。

20~60 歳に該当する被験者に関して、ワクチン接種後 (6 w) の血清の中和抗体価は、ワクチン接種前 (0 w) の血清の中和抗体価の 1.46 倍であったが、鼻腔洗浄液の中和抗体価は 2.12 倍となった。ワクチン株である A/Victoria/210/09 に対する中和抗体価の上昇は血清で 8 倍、鼻腔洗浄液で 5.88 倍と比較し低いもののワクチン株と比較し 10 年以上前に分離されたウイルス株にたいしても中和抗体の上昇が認められその上昇率は鼻腔洗浄液で高かった。

D. 考察

注射によるワクチンで誘導される免疫は主に血中の中和抗体でありワクチン株に対しては高いものの抗原性の異なるウイルス株に対しては低くなる。一方経鼻ワクチンによる粘膜免疫誘導では血清の中和抗体に加えて鼻腔等の粘膜への免疫誘導が可能でそれら粘膜免疫は変異ウイルスに対しても中和効果が期待できる。そこで本研究では、全粒子不活化ワクチン接種を受けた健常人ボランティアのワクチン接種前後の血清中和抗体に加えて、鼻腔洗浄液中中和抗体を測定し評価を試みた。経鼻インフルエンザワクチンで誘導される抗体応答は、ワクチン株と異なる株に対しても誘導され交叉中和抗体の上昇率は鼻腔洗浄液の方が血清と比較して高かった。

E. 結 論

健康人ボランティアに対し、全粒子不活化インフルエンザワクチンの経鼻接種を行った結果、抗原性の異なる変異ウイルスに対する血清中和抗体及び鼻腔洗浄液中にも交叉中和活性を有する機能的な抗体が強く誘導されることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach HN, Katano H, Diep PH, Kumasaka T, Thuy NT, Hasegawa H, San LT, Kawachi S, Liem NT, Suzuki K, Sata T. Pathological study of archival lung tissues from five fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam. *Mod Pathol.* 2012 Nov 23. doi: 10.1038/modpathol.2012.193. [Epub ahead of print]
- 2) Sasaki I, Hoshino K, Sugiyama T, Yamazaki C, Yano T, Iizuka A, Hemmi H, Tanaka T, Saito M, Sugiyama M, Fukuda Y, Ohta T, Sato K, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H, Toyama-Sorimachi N, Kohara H, Nagasawa T, Kaisho T. Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. *Blood.* 2012 Oct 11. [Epub ahead of print]
- 3) van Riet E, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H. Mucosal IgA responses in influenza virus infections; thoughts for vaccine design. *Vaccine.* 2012 Aug 31;30(40):5893-900. Epub 2012 Jul 24.
- 4) 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.* 2012 Jan 13.

- 5) 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. *J Med Virol.* 2012 Feb;84(2):336-44.

2. 学会発表

- 1) 長谷川秀樹：次世代ワクチンとしての経鼻インフルエンザワクチン。第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012年11月
- 2) 山本典生、浅沼秀樹、佐藤佳代子、中内美奈、高橋 仁、許斐奈美、相内 章、長谷川秀樹、田代真人：細胞培養もしくは鶏卵で製造されたインフルエンザワクチンの品質管理試験および免疫応答への影響。第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012年11月
- 3) 川口 晶、鈴木忠樹、相内 章、佐藤由子、信澤枝里、田代真人、長谷川秀樹：喘息発作誘発モデルを用いたインフルエンザウイルス感染症の病態解析。第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012年11月
- 4) 池田千将、伊藤 良、相内 章、鈴木忠樹、田村慎一、田代真人、浅沼秀樹、長谷川秀樹：基礎免疫を有する個体に対する経鼻投与型インフルエンザワクチン効果。第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012年11月
- 5) 泉地恭輔、相内 章、鈴木忠樹、浅沼秀樹、長谷川秀樹：経鼻投与型インフルエンザワ

- クチンによるマウス母子免疫の解析。第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
- 6) 鈴木忠樹、川口 晶、相内 章、田村慎一、伊藤 良、小田切孝人、田代真人、長谷川秀樹：インフルエンザワクチン経鼻接種により鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析。第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月
- 7) 相内 章、池田千将、伊藤 良、鈴木忠樹、泉地恭輔、田村慎一、田代真人、浅沼秀樹、長谷川秀樹：感染あるいはワクチン接種歴が経鼻投与型インフルエンザワクチンにより誘導される抗体応答に対して与える影響。第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月
- 8) Elly van Riet, Ainai A, Ito R, Senchi K, Suzuki T, Tamura S-I, Tashiro M, Hasegawa H: Characteristics of IgA versus IgG human monoclonal antibodies cloned from human plasma cells induced upon intranasal H5N1 vaccination. 第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月
- 9) Hasegawa H, Ainai A, Suzuki T, Tamura S-I, Tashiro M, Kurata T: Analysis of protective immune responses after intranasal administration of an inactivated whole-virion influenza vaccine in human. 第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月
- 10) 浅沼秀樹、相内 章、佐藤佳代子、許斐奈美、岸田典子、長谷川秀樹、山本典生、田代真人：野外株より細胞培養インフルエンザワクチンの種候補株を選定する基準の検討。第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月
- 11) 山崎達也、二宮大輔、長島麻里亜、荒井由佳、手嶋保智、長谷川秀樹、相内 章、藤本 陽、千葉 丈：インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた受動免疫法の応用研究～長期的なウイルス防御効果と免疫不全マウスへのウイルス防御効果の検討～第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得（出願）
長谷川秀樹、谷本武史
混合免疫賦活剤を含む新規ワクチン
出願番号 特願 2008-094360
出願日 平成 20 年 3 月 31 日
登録日 平成 25 年 2 月 8 日
2. 実用新案登録
なし

PB2 サブユニットによるインフルエンザウイルス遺伝子複製酵素の

阻害効果に関する研究

研究分担者 柏木 孝仁 久留米大学医学部感染医学講座（臨床）・講師

研究要旨

我々はインフルエンザウイルスの遺伝子複製酵素の3つのサブユニット（PA、PB1、PB2）のうち一部を入れ替えると自身の遺伝子複製酵素の活性が著しく障害されることをこれまでに見出している。そこで今回はこの入れ換えによる活性喪失を利用してインフルエンザウイルスの遺伝子複製酵素を特異的に阻害する方法を検討した。結果、PB2 サブユニットの一部（PB2 断片）を利用することで特異的かつ強力にインフルエンザウイルスの遺伝子複製酵素の活性を阻害できることが分かった。ここで示した PB2 断片は RNP の形成過程を阻害していることが示唆され、特異性が高く、阻害薬としての有用性が期待される。

A. 研究目的

インフルエンザウイルスは遺伝子再集合を起こすことが一般に知られている。この機構により、遺伝子複製酵素の3つのサブユニットが異なる種に由来することがある。我々はこれまでにこれらのサブユニットの特定の組み合わせにおいて、遺伝子複製酵素の活性が喪失する事を報告している。これを応用して遺伝子複製酵素を阻害する事を試みた。

B. 研究方法

我々は遺伝子複製酵素を構成する PB2 が活性の喪失に関与することを見出している。そこで WSN 由来の RNP を細胞内に構築し、そこに競争的に阻害効果のある PB2 を作用

させ阻害効果を確認した。阻害効果の確認はルシフェラーゼによるレポーターアッセイにより行った。

（倫理面への配慮）

倫理に関わる特記事項なし。

C. 研究結果

濃度依存的に PB2 によって WSN の遺伝子複製が阻害されることを確認できた。PB2 断片を作成したところ、重要部位が PB2 の N 末端に存在することが分かった。詳細な検討を進め、PB2 上の重要部位を特定した。この断片の阻害作用は著しく強く、H5N1 に対しても強い阻害作用を示した。またこの阻害作用はプラークアッセイでも確認され、ウイルスの増殖を抑制することが分かった。

D. 考察

ここで示した PB2 断片は RNP の形成過程を阻害していることが示唆され、特異性が高く、阻害薬としての有用性が期待される。今後は、実用化に向けた改良を加えると共に、より強い阻害作用を示す変異体の作成を試み、そのメカニズムについても探究する。

E. 結論

インフルエンザウイルスの RNA 複製酵素を構成する 1 サブユニットである PB2 によって自身の RNA 複製酵素を強力に阻害できた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hamada N, Imamura Y, Hara K, Kashiwagi T, Imamura Y, Nakazono Y, Chijiwa K, and Watanabe H. Intrahost emergent dynamics of oseltamivir-resistant virus of pandemic influenza A (H1N1) 2009 in a fatally immunocompromised patient. *J Infect Chemother* 18:865-871, 2012.

Nakazono Y, Hara K, Kashiwagi T, Hamada N, and Watanabe H. The RNA polymerase PB2 subunit of influenza A/HongKong/156/1997 (H5N1) restricts the replication of reassortant ribonucleoprotein complexes. *PLoS ONE* 7(2) e32634: 1-9, 2012.

2. 学会発表

柏木 孝仁、原 好勇、中園 陽子、今村 宜寛、濱田 信之、渡邊 浩 「インフルエンザウイルスの PB2 サブユニットによる RNA ポリメラーゼの阻害効果」 第 60 回日本ウイ

ルス学会学術集会、大阪、2012. 11. 14.

原 好勇、中園 陽子、柏木 孝仁、今村 宜寛、濱田 信之、渡邊 浩 「インフルエンザウイルス RNP の活性発現には PB2-PA の組み合わせが重要である」 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012. 11. 14

濱田 信之、原 好勇、松尾 勇作、今村 宜寛、柏木 孝仁、後藤 憲志、大津 寧、本廣 孝、渡邊 浩 「重症心身障害児施設でのヒト・メタニューモウイルス集団感染における新規迅速診断キットの有用性」 第 86 回 日本感染症学会総会、長崎、2012. 4. 26.

原 好勇、柏木 孝仁、濱田 信之、渡邊 浩 「インフルエンザウイルスの PB2 と PA は遺伝子再集合を制御する」 第 86 回 日本感染症学会総会、長崎、2012. 4. 26.

柏木 孝仁、原 好勇、今村 宜寛、濱田 信之 「インフルエンザウイルスの遺伝子再集合を応用した阻害薬の開発」 第 86 回 日本感染症学会総会、長崎、2012. 4. 26.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

「研究1：フィリピンにおいて2008-2011年に検出されたエンテロウイルス68型」

「研究2：小児重症呼吸器感染症患者でのライノウイルスの流行ダイナミズム」

研究分担者 押谷 仁 東北大学医学系研究科 微生物学分野 教授

共同研究者：今村忠嗣、藤直子、鈴木陽 (東北大学)

研究要旨

研究1：フィリピンにおいて2008-2011年に検出されたエンテロウイルス68型

フィリピン・レイテ島において2009年から2011年まで行われた呼吸器感染症の疫学調査において、2011年に12件の急性呼吸器感染症患者からエンテロウイルス68型が検出された。この12件には9件の小児肺炎患者、2件の成人肺炎患者、1件のInfluenza-like illness (ILI) 患者が含まれ、肺炎患者におけるEV68検出率はILI患者に比して有意に高かった。また検出されたEV68カプシド遺伝子VP1に基づく解析の結果、2011年のレイテ島において流行したEV68は、2008-09年の流行後に同地域内で維持されてきた株と外部から流入した株で構成されている可能性が示唆された。

研究2：小児重症呼吸器感染症患者でのライノウイルスの流行ダイナミズム

フィリピン・レイテ島において小児重症呼吸器感染症患者より検出されたライノウイルスの種、血清型を決定し、熱帯地域におけるライノウイルスの季節性及び地域における流行様式の解析を行った。流行の規則性は種内及び種間(AとB)では見られなかったが、ウイルスが検出された空間的広がりを解析すると種によって異なる場所で流行していることが分かった。また血清型別では複数の型が同時期に流行するが、その型の構成は経時的に変化することが分かった。その広がり方に地域特異性などは見られなかった。

研究1 フィリピンにおいて2008-2011年に検出された
エンテロウイルス68型に対する分子疫学研究

今村忠嗣

A. 研究目的

エンテロウイルス68型 (EV68) は1962年米国において下気道感染の症状を呈した小児から初めて分離された。以降散発

的な発生報告のみであったが、2008~09年、我々が呼吸器感染症の疫学研究を行っているフィリピン・レイテ島で21人の小児肺炎患者から本ウイルスが検出され

た (Imamura T., et al, Emerg Inf Dis, 2010)。その後、日本を含む世界各国で EV68 の検出数が急増し、CDC が週刊報告 MMWR にて各国の EV68 検出状況のまとめを行なった (CDC, MMWR, 2011)。我々はその中で日本とフィリピンにおける疫学情報のまとめを担当した。このように世界的規模の流行をおこした EV68 であるが、その検出数増加の機序は不明な点が多い。

また、過去に報告された EV68 検出のほとんどが重症呼吸器感染症の症状を呈した小児を対象とした研究であったため、EV68 の成人および軽症者における公衆衛生疫学的重要性もいまだ明らかでない。

B. 研究方法

フィリピン・レイテ島に位置する三次医療施設 Eastern Visayas Regional Medical Center (EVRMC) に重症肺炎で入院した小児・成人患者、またレイテ島内に位置する三箇所の外来医院を Influenza-like illness (ILI) 症状で受診した小児・成人患者を研究対象とし、計 5240 名 (小児肺炎患者 1187 名、成人肺炎患者 456 名、ILI 患者 3597 名) から鼻咽頭ぬぐい液を採取した。研究期間は 2009 年 6 月から 2011 年 12 月までとした。採取した検体から遺伝子を抽出し、PCR 法により EV68 遺伝子の検出を行なった。

(倫理面への配慮)

患者情報収集・臨床検体採取に先立ち、呼吸器疾患患者に対して研究の趣旨を説明し、さらに紙面への署名により患者情報および臨床検体の収集・研究使用に関しインフォームドコンセントを得た。本研究は東北大学医学系研究科の倫理委員会および、フィリピン熱帯医学研究所 (Research Institute for Tropical Medicine) の Institutional

Review Board から承認を受けて実施された。

C. 研究成果

総計 5240 名から採取された呼吸器検体のうち、12 検体 (0.23%、12/5240) から EV68 遺伝子が検出された。これらは 2011 年 6 月~8 月に検出され、2009・2010 年には EV68 は検出されなかった (図 1)。EV68 の検出率は、小児肺炎患者で 0.76% (9/1187)、成人肺炎患者で 0.44% (2/456)、ILI 患者で 0.028% (1/3597) であり、肺炎患者における EV68 検出率は ILI 患者と比べて有意に高かった ($p < 0.0001$)。

カプシド遺伝子 VP1 の塩基配列にもとづく系統樹 (近隣結合法) では、本研究期間中に検出された EV68 は Lineage 2 および Lineage 3 に分類された。さらに VP1 塩基配列にもとづく分子時計上では、本研究で検出された EV68 のうち Lineage 2 に属する株群は、以前 2008-09 年にフィリピンで検出された Lineage 2 の株群から分岐していた (図 2)。一方、本研究で検出された Lineage 3 に属する株群は、2008-09 年にフィリピンで検出された Lineage 3 の株から分岐せず、2009 年に米国にて検出された株群と近縁に位置した (図 2)。

D. 考察

EV68 は重症呼吸器感染症患者からの検出率が高く、その発症に関与している可能性が示唆された。また、以前報告した 2008~09 年の EV68 検出と合わせると、過去 4 年の間にフィリピン・レイテ島において EV68 の流行が 2 年間隔で二度観察された。EV68 は周期的に感染流行をおこしている可能性が考えられる。また、分子時計解析の結果、2011 年の EV68 流行は、2008~09 年の同地域内流行株群に由来するウイルスと、米国で検出された株群に

類似したウイルスの双方により引き起こされていることが判明した。地域内で維持されてきたウイルスと、外部から流入したウイルスによる流行形成の機序が考えられる。さらに、2011年フィリピンで検出されたウイルスが米国で検出されたものに遺伝子学的に類似していた事実より、国境をこえたグローバルな規模でのウイルス伝播の可能性も否定できない。

E. 結論

EV68の重症呼吸器感染症の起因病原体としての重要性が示された。また地域内で維持されたウイルスと外部から流入したウイルスによりEV68検出数増加が形成されている可能性が示唆された。

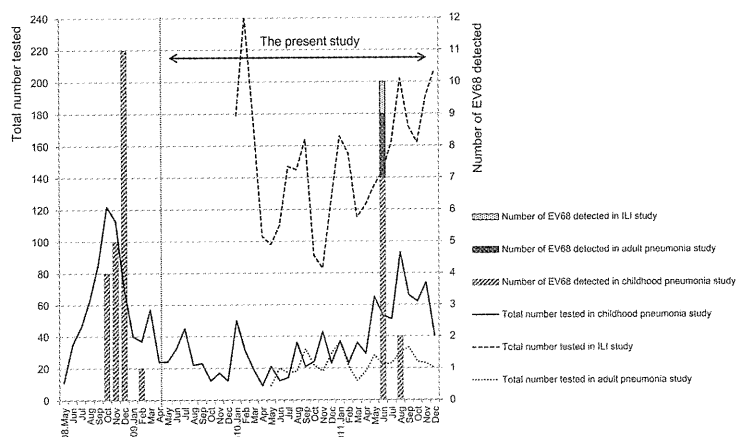


図1. フィリピン・レイテ島におけるEV68検出の時系列分布

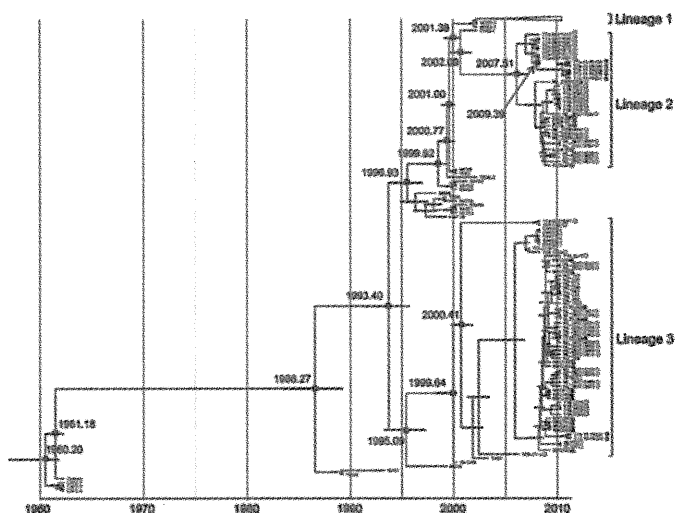


図2. EV68 カプシド遺伝子 (VP1) にもとづく分子時計解析

フィリピンで2011年に検出されたEV68；緑丸、フィリピンで2008~09年に検出されたEV68；赤丸

研究2 小児重症呼吸器感染症患者でのライノウイルスの流行ダイナミズム

藤直子

A. 研究目的

ライノウイルスはウイルス性呼吸器感染症から高率に検出されるウイルスの一つとされ温帯地域（ヨーロッパ、アメリカ）では多くの研究が行われているが熱帯地域からの報告は限られている。また2006年に発見された新しいC型ライノウイルスを含む長期間の流行様式はまだ良くわかっていない。ライノウイルスは100以上の血清型があるとされているが、血清型別での流行様式を解析した報告はない。

本研究ではフィリピンの一医療施設に入院を必要とした重症呼吸器感染症患者より検出されたライノウイルスの三年間における流行様式及び空間的解析を行った。

B. 研究方法

2008年5月から2011年5月までにフィリピン・レイテ島、東ビサヤ地域医療センターにて重症呼吸器感染症と診断され入院した小児（生後7日～14歳）から咽頭拭い液を採取し、5' Non-coding region (5' NCR) を増幅するPCRでスクリーニングを行った後、同領域及びVP4領域のシーケンス解析を行いライノウイルスの種及び系統（血清型）を決定した。ライノウイルスの流行パターンを解析する為にタイムシリーズ解析を月別、週別でおこなった。患者情報を元に種別の空間的解析をおこなう為に空間的クラスター解析を行った。

C. 研究結果

1514 検体中、379 (25%) がライノウイルス陽性であった。ライノウイルスAは53.2%、Bは8%、Cは38.8%であった。検出の9割

以上を占めたA、C間でこれ以降の解析を行った。ライノウイルス全体、種別では明確なパターンは見られなかった。(A、C内の相関: ライノウイルスA $r=0.179-0.650$, ライノウイルスC $r=-0.077-0.435$) (A、C間の相関: ライノウイルスA vs ライノウイルスC $r=-0.286-0.395$)。有意にリレティブリスクが高い地域を検出するクラスター解析の結果A、Cはそれぞれ異なる地域で流行していたことが示唆された(図3)また、系統（血清型）Aは24、Bは1、Cは22系統に分類された。多様な系統が同時期に検出されるものの、3年間を通じて検出される系統がある一方で、数カ月ずつの間隔で散発的に検出される系統との2種類に分けることが出来た。空間的解析では、多様な血清型が多地域で検出されていた(図4)。

D. 考察

ライノウイルス全般では温帯地域で見られていたような明確な季節性はなく、雨季に多いなどの傾向もなかった。一定の周期性はなかったものの、A、Cではそれぞれ流行時期、及び異なる地域で独立して流行している可能性が示唆された。1-8系統が同時期に検出され、三年間の研究期間中に反復して検出される系統と散発的に一時期のみ検出される系統に分けられた。空間的解析では多くの血清型が多地域にて検出され地域性は見られなかった。血清型の検出傾向も(1)タクロバン地域を中心に人口密集地のみから検出される、(2)人口密集地域及び周辺地域から検出される、(3)周辺地域のみから検出される、の3グループに分けられ、一地域でのライノウイルスが非常にダイナミズムを持って流行している

ことが示された。このような多様な系統の流行はどのように維持されるのか、また新しい系統はどのようにその地域に流入するのかな

どを明らかにするため更なる解析が必要である。

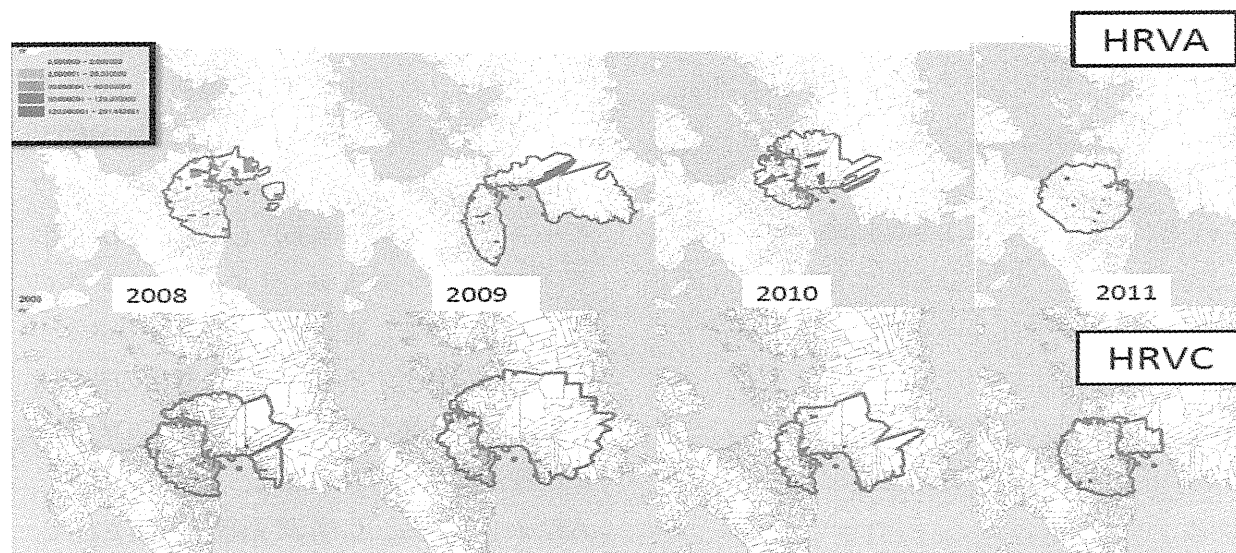


図 3. 空間的クラスター解析

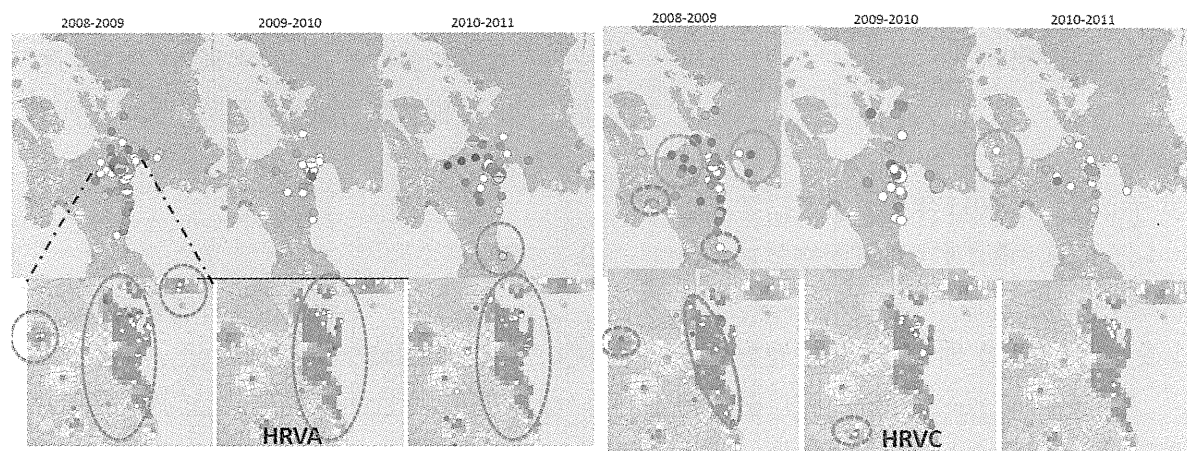


図 4. 血清型別空間的広がり

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- N Fuji et al., Transmission dynamics of Human rhinovirus for three year periods in pediatric cases of severe respiratory illness, Acute Respiratory Infections Panel Meeting, United States-Japan Cooperative Medical Science Program, 13 March 2013, Singapore
- Tadatsugu Imamura, Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2013 “Molecular analysis of Enterovirus 68 in the Philippines”
- N Fuji et al., Genetic Diversity of Rhinoviruses in the Philippines, Asia Africa Research Forum 2013, 23-24 January 2013, Tokyo
- Tadatsugu Imamura 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 “Molecular epidemiology and evolution of Enterovirus 68 in the Philippines, 2008-2011”

- Tadatsugu Imamura
XV International Symposium on Respiratory Viral Infections
- “Molecular epidemiology and evolution of Enterovirus 68 in the Philippines, 2008-2011”
- N Fuji et al., Human Rhinoviruses among Severe Respiratory Infections in the Philippines, XV International Symposium on Respiratory Viral Infections, 14-17 March 2013, Rotterdam, the Netherlands

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. **特許出願状況**
なし
2. **実用新案登録**
なし
3. **その他**
なし

呼吸器病因細菌の分子疫学的解析

マイコプラズマ流行株のゲノム解析

研究分担者 国立感染症研究所 細菌第二部 部長 柴山恵吾

研究協力者 国立感染症研究所 細菌第二部 主任研究官 見理剛

研究要旨

肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*) によるマイコプラズマ肺炎は、若年齢層では大きな割合を占める呼吸器感染症である。日本では、2011 年後半からマイコプラズマ肺炎が大流行している。*M. pneumoniae* には2つの菌型 subtype 1 と subtype 2 が存在するが、2011 年から日本において流行しているマイコプラズマ肺炎では、患者から subtype 1 の菌が多く分離され、その他には subtype 2 の亜型 variant 2a と 2c が見つかった。分離株のうち、マクロライド耐性株が 65.7% だった。外来治療なしで入院した症例で解析を行った結果、マクロライドは治療効果が認められないことがわかった。今回の流行が終息した後も、再び数年後に流行が来る可能性がある。今後、引き続き流行株の細菌学的な解析を進めて流行メカニズムを解析する必要がある。それとともに、臨床疫学研究をさらに拡大し、マクロライドの治療効果を評価し、適切な治療薬を決めて行く必要がある。

A. 研究目的

肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*) によるマイコプラズマ肺炎は、若年齢層では大きな割合を占める呼吸器感染症である。数年ごとに大きな流行が起こることが、以前から世界的にも知られているが、その要因はよくわかっていない。大流行の要因には、ヒトの集団の免疫の状態や、*M. pneumoniae* の株間の抗原性の違いなどが関連していると思われる。*M. pneumoniae* には2つの菌型 subtype 1 と subtype 2 が存在するが、過去の流行ではこれらの菌型が占める割合に変動が見られることがわかっている。また、それぞれの

菌型の亜型も見つかってきている。加えて、近年はマクロライドに耐性の株が多いと言われている。日本では、2011 年後半からマイコプラズマ肺炎が大流行している。この研究ではこの大流行の背景を疫学的、及び分子生物学的に解明を行い、必要な対策について考察を行うこととした。

B. 研究方法

分離株の遺伝子型別を行った。また、近年増加している variant 2a 菌のゲノムを解析した。臨床疫学研究では、2011 年流行時におけるマイコプラズマ肺炎による入院患者の臨床像について検討を行った。14 都道

府県 47 医療機関（小児科 38 施設、内科・呼吸器科 9 施設）からマイコプラズマ肺炎患者の臨床情報を収集し、外来治療を経ずに入院となった 176 例についてその治療効果を抗菌薬ごとに比較した。また、倉敷中央病院に協力頂き、2007 年から 2012 年の間に菌株を 70 株収集して、遺伝子型別、薬剤耐性を解析した。

（倫理面への配慮）

患者の臨床情報の収集については、国立感染症研究所倫理委員会に研究計画を申請し、承認を得た。

C. 研究結果

遺伝子型別の結果、subtype 1 型が多く、その他は variant 2a と 2c だった。subtype 2 は分離されなかった(図 1)。

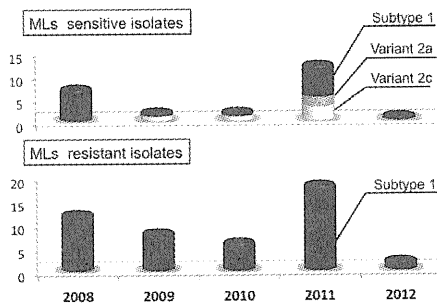


図 1. 臨床分離株の遺伝子型。

2a 亜型株は、ゲノム上に 6-kbp の挿入配列があり、その中に菌体表層に存在するリポ蛋白をコードする遺伝子が複数存在することが分かった。これらが挿入されることで菌の抗原性が変化し、流行の一因となっている可能性が考えられた。また、国内で P1 蛋白のアミノ酸配列に変異がある variant 2b 菌が出現していることも確認した。このタイプは現在国内では稀であるが、抗原性が異なるため今後流行株となる可能性があると考えられた(Kenri T, Ohya H, Horino A, Shibayama K., Identification of *Mycoplasma pneumoniae* type 2b variant strains in Japan. J. Med. Microbiol. 2012

Nov;61(Pt 11):1633-5)。

収集した菌株 70 株のうち、46 株 (65.7%) がマクロライド耐性だった。(図 1)

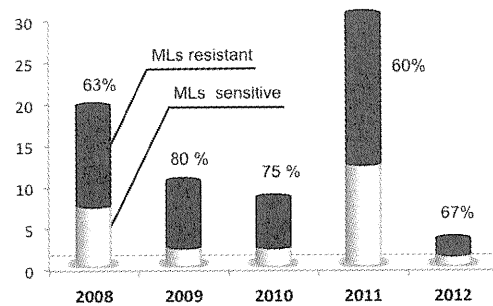


図 1. 菌株分離数と耐性株数。

年齢分布は、小児が大多数を占めた(図 2)。

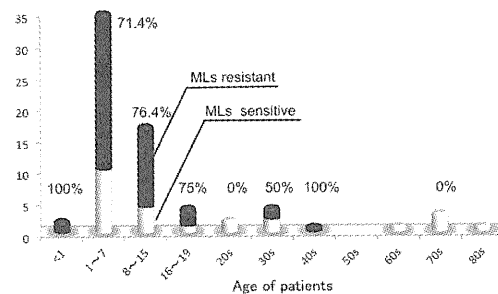


図 2. 患者の年齢分布と耐性株の割合。

外来治療を経ずに入院となった患者では、マクロライド治療群では対照群 (β -ラクタム単剤治療群) と比較して罹病期間に有意差が認められず、ミノサイクリン治療群のみが有意差を認め、対照群と比較して 2.5 日 (95%信頼区間: 0.7~4.3 日) 短縮していた (IASR Vol. 33 p. 162-163: 2012 年 6 月号)。

D. 考察

2011 年からのマイコプラズマ肺炎の流行は、もともとのこの感染症の流行周期にあたったこと、また菌の抗原変異とマクロライド耐性菌の増加などが背景にあると考えられた。今回の流行が終息した後も、再び数年後に流行が来る可能性がある。今後、引き続き流行株の細菌学的な解析を進めて流行メカニズムを解析する必要がある。それとともに、臨床疫学研究をさらに拡大し、