

**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 24 年度 総括研究報告書

研究代表者 山中 昇

平成 25（2013）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 24 年度 総括研究報告書

研究代表者 山中 昇

平成 25（2013）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・・・・・・・・・・・・・・・・

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、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、～について検討をすすめた。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2011年に大流行したマイコプラズマ肺炎から分離したマイコプラズマのsubtypeや薬剤耐性の検討、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、バイオフィルム形成による難治化の病態、7価肺炎球菌ワクチン接種に伴う血清型の分布およびその変化、蛋白抗原による新しい分類およびワクチン候補などの検討を行った。

(結果と考察)

1. インフルエンザウイルス感染の重症化の病態

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。重症化の病態を解析するために、マウスの肺および脳で増殖する A/WSN33(H1N1)を用いてインフルエンザウイルスに対する局所免疫応答を検討したところ、肺炎群・脳炎群ともに G-CSF, IFN , IL-12, MCP-1, IP-10, TNF など、ほぼ同様の炎症性サイトカインが上昇していた。肺炎群では気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の IP-10 が、脳炎群では脳脊髄液 (CSF) 中に抗炎症性サイトカインである IL-10, IL-13 が有意に上昇していた。感染局所は病態を反映しやすいため、局所の免疫反応を評価することが重症インフルエンザの病態解析に重要であると考えられた。

2. インフルエンザウイルスの伝播形式

ハムスターにおいて、ヒトインフルエンザウイルスがどのように個体間伝播するかを明らかにするため、A/California/04/09(H1N1)を用いて、直接接触伝播試験および飛沫伝播試験を行い、伝播性を解析した。その結果、直接接触伝播試験では、実験に用いた全てのハムスターで伝播することが確認できた。さらに飛沫伝播試験では、4 匹中 2 匹で伝播が起こったことが確認できた。これらの結果から、A/California/04/09(H1N1)は、ハムスターにおいて飛沫を介した個体間伝播を起こすことが明らかとなり、ハムスターのインフルエンザウイルス飛沫感染モデルの可能性が示唆された。

3. インフルエンザワクチン

パンデミックの発生に備えて、短期間に大量のワクチンを供給する必要があるため、従来の孵化鶏卵培養法に代わり、MDCK 細胞などを用いた細胞培養法による新型インフルエンザワクチンの開発が進められている。しかし、パンデミックワクチンを短期間大量に必要とする際には、よりウイルス生産効率の優れた細胞を開発する必要がある。本研究では、細胞培養ワクチンの実用化に向けて従来の MDCK 細胞よりもウイルス増殖能力が高い新規 MDCK 細胞の開発を試みた。I 型インターフェロン (IFN) 誘導性遺伝子である IRF7 に対する shRNA を安定発現させた新規 MDCK 細胞にインフルエンザウイルスを感染させると、コントロール MDCK 細胞と比較して HA 価が 2~8 倍上昇した。また、新規 MDCK 細胞において A/PR8 株のウイルス増殖性改善による I 型 IFN 産生量への影響を調べた結果、I 型 IFN 産生制御機構と別の経路を介してウイルス産生量が有意に増加した。以上より、ウイルス高増殖性を示す新規 MDCK 細胞の樹立によって効率的なワクチンシードウイルスの分離増殖が可能となり、大量のワクチン供給体制の構築に繋がることが期待される。

4．鳥インフルエンザ

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。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。したがって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極めて重要である。

5．マイコプラズマ感染

2011 年後半から大流行しているマイコプラズマ肺炎の原因である *M. pneumoniae* の subtypes, 薬剤耐性、7 価肺炎球菌ワクチン(PCV7)の普及に伴う IPD における肺炎球菌血清型の変化、新しい肺炎球菌蛋白抗原による肺炎球菌の分類やワクチン候補としての研究が行われた。2011 年から流行しているマイコプラズマ肺炎では、患者から *M. pneumoniae* 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。

6．肺炎球菌ワクチン(PCV7)

小児市中肺炎に対する PCV7 導入効果の千葉市における検討では、5 歳未満小児市中肺炎入院数と、肺炎球菌性肺炎入院数の減少傾向があり、特に PCV7 含有血清型は著明な減少を認め、PCV7 導入による早期の効果が認められている。

7．肺炎球菌菌株共通抗原 PspA と新規ワクチン

新規ワクチン候補を検討するため、肺炎球菌蛋白抗原 PspA の検討が行われた。急性中耳炎、急性鼻副鼻腔炎あるいは急性咽頭・扁桃炎の患者における PspA の検討では、中耳貯留液、鼻汁、副鼻腔分泌液、咽頭分泌物から分離される肺炎球菌のほとんどは、PspA1 あるは PspA2 のいずれかに分類された。すなわち、PspA1 が 44.6%に、PspA2 が 49.4%に検出され、PspA 型の分離頻度は、莢膜血清型とは関連を示さなかった。さらに、いくつかの融合型 PspA を作成し、それに対する抗体の反応性を検討すると、ある特定の融合型 PspA 免疫によって得られたマウス特異抗体が全てのクレードの PspA に対して結合交差性を示し、また各種クレード発現肺炎球菌菌体に対する結合性、それらの致死感染モデルに対して感染防御効果を示した。以上のことから PspA を含めた肺炎球菌ワクチンは、血清型に関係なく肺炎球菌を広くカバーすることが可能であり、次世代の肺炎球菌ワクチン抗原として有用であると考えられた。

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、肺炎球菌やインフルエンザ菌などの細菌、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・制御を目的とし、行政への提言も視野に入れている。本研究のキーワードは、疫学的データの集積・特徴的な臨床像の解析、病態の解明、伝播形式の解明、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、～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)高原性鳥インフルエンザのモニタリングを行い、遺伝子、抗原性および動物に対する病原性を解明し、国際連携によるウイルス流行の対策を検討した。

インフルエンザ以外の呼吸器感染ウイルスの流行・伝播を検討するため、フィリピンでのエンテロウイルスやライノウイルスの季節性および地域による流行

様式の解析を行った。

細菌感染症においては2010年に本邦で認可され、2012年から本格的に普及しているPCV7の呼吸器感染症とその起炎菌、薬剤耐性菌の変化を検討し、さらにpost-PCV7の影響としての血清型の変化、その対策としての菌株共通蛋白抗原PspAの新規ワクチン候補としての検討をおこなった。さらに2011年から流行しているマイコプラズマ肺炎の起炎菌である*M.pneumoniae*の分子疫学的解析や呼吸器疾患の難治化の重要な原因であるバイオフィーム形成と肺炎球菌莢膜やインフルエンザ菌との関連についても研究を進めた。

B 研究方法

インフルエンザウイルス感染およびその他の呼吸器ウイルス感染

1. インフルエンザ関連脳炎/脳症や肺炎における局所の免疫応答を解明するため、インフルエンザによる肺炎と脳炎における全身および局所でのサイトカイン・ケモカインプロファイルを比較検討した。
2. 2009年にパンデミックを起こしたインフルエンザウイルス (A/California/04/09(H1N1)[Ca104]) を用いて、まず、ハムスターにおけるウイルスの増殖性について解析し、感染ハムスター：非感染ハムスターを同居飼育する直接接触伝播試験と、感染ハムスター：非感染ハムスターをメッシュ板で仕切って飼育する飛沫伝播

- 試験を行った。両試験とも、感染群へのウイルス接種から1日後に非感染群を同居させた。感染後、体重変化を観察するとともに、鼻腔洗浄液中のウイルス量と、中和抗体価を測定した。
3. コントロール MDCK 細胞と新規 MDCK 細胞に A/PR8 株(A/H1N1)、A/Narita/1/2009 株(A/H1N1pdm09)、B/Florida/4/2006 株(B/山形系統)、A/Victoria/361/2010 株(A/H3N2)感染後、培養上清中のウイルス液の HA 価を測定した。さらに、A/PR8 株感染後、培養上清中のウイルス RNA 及び細胞内 RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法にてウイルス産生量及び IFN- γ 産生量を定量し、比較検討した。
 4. 2010/11, 2011/12, 2012/13 のインフルエンザ流行期 3 シーズンに、発熱や呼吸器症状を主訴としてインフルエンザ感染症を疑われ、迅速検査を実施した小児において鼻汁を採取し、インフルエンザウイルスの分離と同定を行い、TCID 法でウイルス量(TCID₅₀/mL)を測定した。さらに、検体の培養細胞への感染により 1 度増殖させたウイルス液を用い、各種ノイラミニダーゼ阻害薬に対する IC₅₀ を解析した。NA 配列は検体から抽出した RNA を RT-PCR で増幅し決定した。
 5. 2008-2009 年、2009-2010 年、2010-2011 年、2011-12 年の 4 シーズンにおいてペイルート市のアメリカンペイルート大学外来を受診したインフルエンザ様疾患を呈する外来患者から鼻咽頭ぬぐい液を採取し、ウイルス A, B 迅速診断キットによるスクリーニングを行った。その後、迅速診断キット陽性検体を新潟大学に輸送し、MDCK 細胞にてウイルス分離を行い、培養検体から RNA を抽出し、cDNA 合成を行いリアルタイム PCR で型・亜型判定を行った。流行ウイルス株の特徴は、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シングし、ウイルス系樹解析により分析した。また、分離培養された各型・亜型ウイルス株選択した株で、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビルに対して NA 阻害剤感受性検査を行った。
 6. 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。
 7. 健常人ボランティアに対して、

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。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。中和抗体価の測定は、マイクロ中和試験により行った。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。

8. 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明らかにしており、今回、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ルシフェラーゼによるレポーターアッセイにより確認した。
9. フィリピン・レイテ島に位置する東ビサヤ地域医療センター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 名から鼻咽頭ぬぐい液を採取した。採取した検体から遺伝子を抽出し、PCR 法によりエンテロウイルス EV68 遺伝子の検出を行なった。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。

肺炎マイコプラズマ、呼吸器細菌 (肺炎球菌、インフルエンザ菌) 感染

1. マイコプラズマ肺炎

臨床分離株の遺伝子型別を行い、近年増加している variant 2a 菌のゲノムを解析した。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臨床疫学研究検討を行った。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 (176 例) の臨床情報を収集し、その治療効果を抗菌薬ごとに比較した。また、2007 年から 2012 年の間の 70 菌株 (倉敷中央病院) について、遺伝子型別、薬剤耐性を解析した。

2. 肺炎球菌表面蛋白 PspA の融合蛋白の交叉反応についての研究

PspA のファミリー 1 とファミリー 2 の抗原エピトープが存在する部分の遺伝子領域を制限酵素 *EcoRI* サイトで融合させ、pET28a(+)ベクターに挿入して、融合 PspA タンパク質発現ベクターを作成した。作成した各融合 PspA タンパク質発現ベクターを *E. coli* BL21(DE3) にそれぞれ形質転換し、融合 PspA タンパク質を大量発現させた。目的の融合タンパク質であることを確認後、各融合タンパク質とアジュバント (Alum+CpGK3) を C57/BL6j マウスに皮下接種し、血清中の抗 PspA 抗体価を測定した。融合 PspA タンパク質免疫血清中 IgG の各 PspA クレド肺炎球菌表面への結合能は 5 種類 PspA クレドを用いて、菌体に結合する蛍光強度をフローサイトメトリー法で測定した。さらに融合 PspA タンパク質免疫によるマウス致死性肺炎モデルの感染防御効果については、マウスに融合 PspA タンパク質の免疫を行い、PspA のクレド 1 ~ 5 を発現する肺炎球菌株 5 株を経鼻接種し、マウス致死性肺炎モデルを作成した。免疫マウスへの肺炎球菌感染後、2 週間にわたってその生存率を観察した。

3. 上気道感染症由来肺炎球菌の PspA 型、薬剤感受性、血清型の検討

2003 年 1 月から 5 月に耳鼻咽喉科領域感染症サーベイランスにより得られた肺炎球菌株 251 株を用いた。

ペニシリン G に対する感受性は米国 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 標準法に基づき検討し、ペニシリン G に対する MIC が、2 µg/ml をペニシリン耐性菌 (PRSP)、0.1~1 µg/ml をペニシリン中等度耐性菌 (PISP)、0.06 µg/ml をペニシリン感性菌 (PSSP) とした。PspA 型 (PspA family) の検討はプライマーとして、LSM12、SKH63、SKH52、SKH41、SKH42、SKH02、ply1、ply2 を用い、PCR 法により分類した (PspA 1 : LSM12/SKH63、PspA2 : LSM12/SKH52、PspA3 : SKH41/SKH42、*pspA* 遺伝子 : LSM12/SKH02、pneumolysin 遺伝子 : ply1/ply2)。

4. 小児肺炎、上気道感染症 (中耳炎、鼻副鼻腔炎) からの肺炎球菌の血清型

Statens 社製抗血清を用いた莢膜膨化反応によりおこなった。

5. バイオフィーム形成の検討

血清型別および PCR で判定された 26 株の β-lactamase-negative ampicillin-susceptible (BLNAS), 22 株の β-lactamase-negative ampicillin-resistant (BLNAR), 28 株の TEM-1 type β-lactamase-producing ampicillin-resistant (BLPAR) - Nontypeable *H. influenzae* (NTHi) と 23 株の *H. influenzae* type b (Hib) に対して Microtiter biofilm assay (MBA) によるバイオフィーム形成の比較検討を行った。

TIGR4 *S. pneumoniae* の莢膜欠損株を作成し、野生株との間で MBA, Confocal laser scanning microscopy (CLSM) によるバイオフィーム産生の比較検討を行った。

C 結果

インフルエンザウイルス感染症およびその他の呼吸器ウイルス感染症

1. ウイルス感染後の局所サイトカイン・ケモカインの動態

ウイルス感染に対する局所反応をみるために、肺炎群では BALF 中、脳炎群では CSF 中のサイトカイン・ケモカインを測定した。G-CSF、IFN、IL-6、RANTES、MCP-1、IL-12、KC、MIP-1、IP-10、TNF は両群で上昇が認められた。特に IP-10 は肺炎群において、他のサイトカイン・ケモカインと比較し、著明な上昇が認められた。また、IL-10、IL-13 は脳炎群でのみ上昇が認められた。局所で特徴があったサイトカイン・ケモカインは肺炎群では IP-10 であり、脳炎群では IL-10、IL-13 であった。IL-10 や IL-13 の抗炎症性サイトカインは肺炎群では上昇が認められず、脳炎群でのみ感染 3 日目、5 日目に対照群と比較し有意な上昇が認められた。IP-10 は特に肺炎群で上昇し、感染 3 日目、5 日目に対照群と比較し有意な上昇が認められた。

2. 新型インフルエンザの伝播様式の検

討

a) ハムスターにおけるウイルスの直接接触伝播

ハムスター 3 匹に Cal04 ウイルスを感染させ、ウイルス接種 1 日後に非感染ハムスター 3 匹を同一ケージに同居させ、体重変化と、鼻腔洗浄液中のウイルス量を測定した。その結果、接種ハムスターは、感染後 2 日目から体重が減少し、非感染ハムスターは 6 日目から体重が減少した。さらに、ウイルス接種から 4 日目（同居から 3 日目）または 8 日目（同居から 7 日目）に、3 匹全ての非感染ハムスターの鼻腔洗浄液からウイルスが検出された。このことから、Cal04 ウイルスが個体から個体へと接触伝播することが確認できた。b) ハムスターにおけるウイルスの飛沫伝播

ハムスターに Cal04 を感染させ、メッシュ板で 2 つに仕切ったケージの一方にて飼育した（1 匹/1 ケージ）。ウイルス接種 1 日後に、メッシュ板で仕切られたもう片方の区画に、非感染ハムスターを同居させ、飛沫伝播の有無を調べた（1 匹：1 匹/1 ケージ × 4 組）。その結果、非感染ハムスター 4 匹中 2 匹で、鼻腔洗浄液からウイルスが検出され、中和抗体価の上昇が認められた。このことから、Cal04 は、ハムスターにおいて飛沫を介したウイルス伝播を起こすことが確認された。

3. インフルエンザウイルス高増殖性を

示す新規 MDCK 細胞の開発

ヒト I 型 IFN 誘導性遺伝子群を標的とする siRNA スクリーニングの結果、IRF7 をノックダウンするとコントロールに比べて再現性良くウイルス産生量が 2~4 倍増加した。A549 細胞と同様、MDCK 細胞においても IRF7 をノックダウンするとコントロールと比較してウイルス産生量は約 4 倍まで増加した。shRNA コントロール細胞と shRNA_IRF7 発現細胞に A/PR8 株 (A/H1N1)、A/Narita/1/2009 株 (A/H1N1pdm09)、B/Florida/4/2006 株 (B/山形系統)、A/Victoria/361/2010 株 (A/H3N2) 感染後、培養上清中のウイルス液の HA 価を測定した結果、コントロール細胞と比較して 2~8 倍増加した。また、A/PR8 株感染後、培養上清中のウイルス RNA 及び細胞内 RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法にてウイルス産生量及び IFN- γ 産生量を定量した結果、ウイルス産生は改善されたが、I 型 IFN 産生能への影響は認められなかった。

4. 小児インフルエンザサーベイランス

2010/11, 2011/12, 2012/13 のインフルエンザ流行期 3 シーズンの小児インフルエンザ患者から、ノイラミニダーゼ阻害薬治療前後で経時的に検体を採取し、ウイルス分離と薬剤感受性の検討を行った。11 ヶ月児から治療後の回復期に分離された A(H1N1)pdm09 ウイルスは H275Y 変異

を有するオセルタミビル耐性ウイルスで、患者からのウイルス排泄は遷延した。本例以外には、現時点で耐性化の問題は発見されていないが、解析を継続中である。

5. 中東(レバノン)におけるインフルエンザサーベイランス

レバノンでは、季節性インフルエンザ流行は冬季であった。また、H1N1pdm09 の流行は 2009 年の 6 月及び 10 月から 11 月であった。また、各型、亜型の流行はヨーロッパと類似していた。また、系統樹解析によりレバノンで分離された株がその他の中東諸国とヨーロッパで分離された株、そしておそらくアジアの株と近縁であることが明らかになった。薬剤耐性ウイルスに関しては、2008-2009 年シーズンにおいて世界的に流行した季節性オセルタミビル耐性 H1N1 の限定的な流行と、地域レベルで 2009 年と 2010-2011 年シーズンにそれぞれ H275Y 変異と S247N 変異をもつ H1N1pdm09 が分離されたのみであった。

6. 鳥インフルエンザサーベイランス

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。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 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 系統に分類された。これらのウイルスは、同系統の参照株 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系統のウイルスでも、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。

7. 経鼻インフルエンザワクチンと交叉免疫応答

接種ワクチンとは異なる A/Sydney/05/97 に対する中和抗体価は、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。

8. インフルエンザウイルス遺伝子複製酵素サブユニットによる複製酵素阻害

サブユニット PB2 によって濃度依存的に WSN の遺伝子複製が阻害されることを確認した。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判明し、さらに 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ブラン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。

9. エンテロウイルス、ライノウイルス感染

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。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 ($p < 0.0001$)。EV68 の塩基配列にもとづく系統樹 (近隣結合法) では、Lineage 2 および Lineage 3 に分類され、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。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 年に米国に検出された株群と近縁に位置した。

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。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。

肺炎マイコプラズマ、呼吸器細菌 (肺炎球菌、インフルエンザ菌) 感染

1. マイコプラズマ肺炎

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。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、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。マクロライド耐性株は 46 株/70 株 (65.7%) で、そのほとんどが小児から分離された。治療においては、マクロライド治療群では対照群 (- 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。

2. 肺炎球菌表面蛋白 PspA の融合蛋白の交叉反応についての研究

融合 PspA タンパク質 A、B および C のいずれの免疫血清は、各クレードの PspA に対して結合性を示した。融合 PspA タンパク質 C の免疫血清は、クレード 1 ~ 5 のいずれの肺炎球菌株に対しても高い結合性を示した。融合 PspA タンパク質 A および B の免疫血清は、クレード 3 に対しては若干低い結合性を示したが、これ以外のクレードの肺炎球菌に対しては、高い結合性を示した。マウス致死的肺炎モデルの感染実験では、融合 PspA タンパク質 C による免疫マウスでは、PspA クレード 1 ~ 5 の肺炎球

菌株のいずれを感染させた場合でも有意な生存率の改善が認められた。融合 PspA タンパク質 A および B による免疫マウスでは、PspA クレード 2、4 または 5 の肺炎球菌株を感染させた場合に有意な生存率の改善が認められた。免疫血清中の IgG の臨床分離肺炎球菌株への結合能をみたところ、融合 PspA タンパク質 A、B および C による免疫血清のいずれにおいても、ほぼ全ての臨床分離肺炎球菌株 (93.5%) に対する IgG 結合能 (結合率 10%以上) を示した。

3. 上気道感染症由来肺炎球菌の PspA 型、薬剤感受性、血清型の検討

急性中耳炎、急性鼻副鼻腔炎などの急性上気道感染症から分離された肺炎球菌分離株 251 株の解析では、PspA 型の分離頻度は PspA1 が 44.6% に、PspA2 が 49.4% に検出され、ほとんどが PspA1&2 型に分類された。

PspA 型の分離頻度は、年齢、性別、分離部位、ペニシリン G に対する感受性で差を認めなかった一方、*mefA* 遺伝子陽性株、血清型 15B 株、血清型 19F 株では、PspA2 株が多く認められた。PspA 型の分離頻度は、莢膜血清型とは関連を示さなかったことから PspA を含めた肺炎球菌ワクチンは、血清型に関係なく肺炎球菌を広くカバーすると考えられた。

4. 小児市中肺炎に対する 7 価肺炎球菌ワクチン(PCV7)の影響

肺炎入院症例は人口千人当たり 3.03 人/6 か月であった。喀痰を採取した 266 例中 52 例が細菌性肺炎 (5 歳未満小児の PCV7 接種率は 72%) と診断され、内訳は肺炎球菌 18 例 (6.8%)、インフルエンザ菌 28 例、モラキセラ・カタラーリス 6 例であった。血液培養陽性肺炎球菌株は 19A、22F、15A(2 株)の 4 株であった。喀痰培養陽性 18 株のうち 16 株を解析し、PCV7 含有血清型は 6B、14、19F、9V の計 4 株 (25%) であった。今回の検討では、5 歳未満小児市中肺炎入院数と、肺炎球菌性肺炎入院数の減少傾向があり、特に PCV7 含有血清型は著明な減少を認めた。

5. 肺炎球菌とインフルエンザ菌におけるバイオフィルムと莢膜の関連

Microtiter biofilm assay (MBA) の平均値はそれぞれ 0.57(BLNAS-NTHi), 0.50(BLNAR-NTHi), 0.34(BLPACR-NTHi), 0.08(Hib)であった。Hib 株の多くは NTH 株に比べバイオフィルム産生は極めて低かったが、バイオフィルム産生を有する Hib 株は PCR で莢膜が欠損していたことが確認された。また、TIGR4 *S. pneumoniae* の莢膜欠損株と野生株とのバイオフィルム産生の比較検討では、莢膜欠損株の産生するバイオフィルムの厚みは野生株の約 2 倍であった。以上の結果より、肺炎球菌と

インフルエンザ菌では莢膜はバイオフィルム産生に対し抑制的に関与していることが示唆された。

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(2013年3月シンガポール開催)。

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マイコプラズマ、肺炎球菌およびインフルエンザ菌の薬剤耐性化、菌株共通蛋白抗原の解析とワクチンへの応用、インフルエンザ菌によるバイオフィルム産生による病態の遷延化と肺炎球菌莢膜の影響などが解明され、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市中肺炎の臨床像や肺炎球菌血清型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やワクチン導入が積極的に進められているアジア(中国、バングラディッシュ)の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. インフルエンザウイルス感染症

インフルエンザウイルスは、従来の季節型インフルエンザに加え、パンデミックを起こした2009年H1N1インフルエンザや、アジアを中心に拡がりを見せている強毒型のH5N1鳥インフルエンザなど、ヒトにおける重要な病原体の1つである。また、インフルエンザは小児や、糖尿病・気管支喘息などの基礎疾患を持つ患者を中心に重症化しやすく、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)やインフルエンザ関連脳炎/脳症など重篤な病態を引き起こす。

インフルエンザA/H1N1/2009 pdmに感染し肺炎を引き起こした患者の血清中ではG-CSF、IL-6、IL-10、IL-15、TNFが上昇したとの報告があり、また、インフルエンザ肺炎マウスモデルにおいて血清中ではIL-1、IL-6、RANTES、KC(IL-8)が上昇し、BALF中ではIFN、KC(IL-8)、RANTES、MIP-2、MCP-1の上昇が認められたとの報告があるが、局所と全身の免疫

応答の相関については明確な結論が出ていない。本研究では、同一の病原体が異なる組織へ感染した場合の生体の反応を観察するため、多臓器に感染能を持つインフルエンザ A/WSN/33(H1N1)株を使用し、さらに感染部位を明確にさせるため、肺炎群は経鼻接種法、脳炎群は脳内接種法を用いて感染させ、全身および局所のサイトカインプロフィールを検討した。肺炎群、脳炎群ともに全身では炎症性サイトカイン・ケモカインの上昇が認められた。一方、局所において肺炎では炎症性サイトカイン・ケモカインが上昇し、脳炎では炎症性サイトカイン・ケモカインに加え抗炎症性サイトカイン・ケモカインの上昇が認められ、局所の免疫応答が異なっていることが判明した。局所は病態を反映しやすく、重症感染症の治療において局所反応の重要性が示され、適切な治療を行う上で、血液のみでなく感染局所の検索による病態把握が必要であることが強調された。

これまで、ヒトインフルエンザウイルスの個体間伝播に関する研究は、フェレットを用いて行われてきた。しかし、フェレットはマウスやラットに比べ、購入費や飼育費、扱いやすさなどの観点から、最適なモデル動物とはいえない。本研究ではハムスターへの感染実験および伝播様式の検討が行われ、A/California/04/09(H1N1)は、ハムスターにおいて飛沫を介した個体間伝播を起こすことが明らかとなり、ハムスターの

インフルエンザウイルス飛沫感染モデルの可能性が示唆された。今後は、他の季節性ヒトインフルエンザを用いて飛沫伝播実験を行い、飛沫伝播に関わるメカニズムやウイルス因子の解明が期待される。

インフルエンザ対策にはワクチン接種が有効とされているが、パンデミックの発生に備えて、短期間に大量のワクチンを供給する必要があるため、従来の孵化鶏卵培養法に代わり、細胞培養法を用いた新型インフルエンザワクチンの開発が進められている。MDCK 細胞はインフルエンザウイルスの分離効率及び増殖性が良いため、細胞培養インフルエンザワクチン製造に用いられる候補細胞の一つである。しかし、パンデミックワクチンを短期間大量に必要とする際には、よりウイルス生産効率の優れた細胞を開発する必要がある。I 型インターフェロン(IFN)誘導性遺伝子である IRF7 に対する shRNA を安定発現させた新規 MDCK 細胞にインフルエンザウイルスを感染させると、コントロール MDCK 細胞と比較して HA 価が 2~8 倍上昇した。また、新規 MDCK 細胞において A/PR8 株のウイルス増殖性改善による I 型 IFN 産生量への影響を調べた結果、I 型 IFN 産生制御機構と別の経路を介してウイルス産生量が有意に増加した。以上より、ウイルス高増殖性を示す新規 MDCK 細胞の樹立によって効率的なワクチンシードウイルスの分離増殖が可能となり、大量のワクチン供給体制の構築に繋がることを期待される。

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。本研究では国内、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 インフルエンザウイルスを分離同定し、その遺伝子的関連を検討した。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。

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と考えられる。

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。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、その交叉反応を検討した。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。すなわち、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、変異ウイルスに対しても中和効果が期待できることが判明し、経鼻免疫の有用性が確認された。

2. 呼吸器マイコプラズマ・細菌感染症
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患者からは、subtype 1の*M. pneumoniae*が多く分離され、マクロライド耐性株が65.7%を占めた。この流行は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ことが危惧された。

現在市販されている肺炎球菌ワクチンでは90を超える肺炎球菌血清型から最大23価の各莢膜ポリサッカライドが抗原として含有されている。しかし莢膜ポリサッカライドのみでは2歳未満の小児に対して特異免疫誘導できない等の欠点

がある。小児用のコンジュゲートワクチン(PCV7)が開発され、本邦でも接種率が急激に高まっており、今回の検討では、5歳未満小児市中肺炎入院数と、肺炎球菌性肺炎入院数の減少傾向があり、特にPCV7含有血清型は著明な減少を認めた。しかし、海外では、ワクチン使用後の非ワクチン型による侵襲性感染症の増加が問題となっている。

現行肺炎球菌ワクチンの欠点を補う目的で、肺炎球菌表層タンパク質抗原の一つである肺炎球菌表面タンパク質A(PspA)による肺炎球菌臨床分離株の分類を行い、さらにPspA融合タンパク質を抗原とするワクチンの効果を調べた。中耳貯留液、鼻汁、副鼻腔分泌液、咽頭分泌物から分離される肺炎球菌のほとんどは、PspA1あるいはPspA2のいずれかに分類され、PspA型の分離頻度は、莢膜血清型とは関連を示さず、これらのことからPspAを含めた肺炎球菌ワクチンは、血清型に関係なく肺炎球菌を広くカバーすることが可能であり、次世代の肺炎球菌ワクチン抗原として有用であると考えられた。PspA1およびPspA2を融合した融合PspAタンパク質Cによる免疫マウスでは、PspAクレード1～5の肺炎球菌すべての肺炎モデルにおいて有意な生存率の改善が認められ、免疫血清中IgGは臨床分離肺炎球菌株への広域で高い結合能を示した。これらの結果から、融合PspAタンパク質Cは新規の肺炎球菌ワクチンの有望な抗原になり得ると考えられた。

肺炎球菌とインフルエンザ菌は中耳炎、肺炎、髄膜炎など様々な感染症の重要な原因菌である。この両菌は近年感染症難治化の原因とされるバイオフィルムを産生することが明らかとなった。莢膜は細菌の病原性とバイオフィルム産生のいずれにも関与しているとされているが、本研究により、肺炎球菌とインフルエンザ菌では莢膜はバイオフィルム産生に対し抑制的に関与していることが示唆され、呼吸器細菌感染症における遷延化の病態を理解する上で重要な知見と考えられた。

F . 研究成果

論文発表

1. Okumura A., Morishima T.
et.al: Severe form of encephalopathy associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Japan. *J Clin Virol.* 56(1):25-30, 2013
2. Yashiro M., Morishima T. et.al:
Redox-active protein thioredoxin-1 administration ameliorates influenza A virus (H1N1)-induced acute lung injury in mice. *Crit Care Med.* 41(1):171-81, 2013
3. Okumura A., Morishima T.
et.al: Unexpected cardiopulmonary arrest associated with influenza: our experience during the 2009 pandemic in Japan. *Influenza Other Respi Viruses.* , 2012
4. Sakabe S, Takano R,
Nagamura-Inoue T, Yamashita N,
Nidom CA, Quynh Le MT,
Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y.
Differences in cytokine production in human macrophages and in virulence in mice are attributable to the acidic polymerase protein of highly pathogenic influenza A virus subtype H5N1. *J Infect Dis* 207:262-271, 2013.
5. Takano R, Kiso M, Igarashi M, Le QM, Sekijima M, Ito K, Takada A, Kawaoka Y. Molecular mechanisms underlying oseltamivir resistance mediated by an I117V substitution in the NA of H5N1 avian influenza viruses. *J Infect Dis* 207:89-97, 2013.
6. Uraki R, Kiso M, Shinya K, Goto H, Takano R, Iwatsuki-Horimoto K, Takahashi K, Daniels RS, Hungnes O, Watanabe T, Kawaoka Y. Virulence determinants of pandemic A(H1N1)2009 influenza virus in a mouse model. *J Virol* 87:2226-2233, 2013.
7. Inagaki A, Goto H, Kakugawa S, Ozawa M, Kawaoka Y. Competitive incorporation of homologous gene segments of influenza A virus into virions. *J Virol* 86:10200-10202, 2012.
8. Hamamoto I, Takaku H, Tashiro M, Yamamoto N.: High yield production of influenza virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7. *PLoS One* 8(3): e59892, 2013
9. 高橋裕明, 矢野拓弥, 福田美和, 山内昭則, 大熊和行, 庵原俊昭, 中野貴司, 松田正, 鳥越貞義, 二井立恵, 伊佐地真知子, 渡辺正博, 落合仁, 酒徳浩之, 加藤孝, 前田一洋, 奥野良信, 神谷齊: 小児におけるインフルエンザ HA ワクチン接種量変更による効果と安全性の検討. *感染症誌* . 87 (2): 195-206 . 2013
10. Takashi Nakano, Akihisa Okumura, Takuya Tanabe, Shimpei Niwa, Masato Fukushima, Rie Yonemochi, Hisano Eda, Hiroyuki Tsutsumi . Safety evaluation of laninamivir octanoate hydrate through analysis of adverse events reported during early post-marketing phase vigilance . *Scand J Infect Dis* . 2013 : Early online publishing .
11. 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* 93, 541-550, 2012
12. 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* 74, 441-447, 2012
13. 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* 157, 247-257, 2012
 14. 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. 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, 2012
 15. Isoda N, Tsuda Y, Asakura S, Okamatsu M, Sakoda Y and Kida H. The nucleoprotein is responsible for interacerebral pathogenicity of A/duck/Mongolia/47/2001 (H7N1) in chicks. *Arch Vrol* 157, 2257-2264, 2012
 16. Kajihara M, Sakoda Y, Soda K, Minari K, Okamatsu M, Takada A and Kida H. 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 pathogenicity in ducks. *Virology* 10, 45, 2013
 17. Okamatsu M, Sakoda Y, Hiono T, Yamamoto N and Kida H 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, 2013
 18. Yamamoto N, Soda K, Sakoda Y, Okamatsu M and Kida H. Proteins of duck influenza virus responsible for acquisition of pathogenicity in chickens. *Virus Res, in press*. 2013.
 19. Shichinohe S, Okamatsu M, Yamamoto N, Noda Y, Nomoto Y, Honda T, Takikawa N, Sakoda Y and Kida H 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, 2013
 20. 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]
 21. 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, Aina 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]
 22. van Riet E, Aina 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.
 23. 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.
24. 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. 2012 Feb;84(2):336-44.
25. 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.
26. 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.
27. 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
28. 鈴木里和 堀野敦子 見理 剛 佐々木裕子 柴山恵吾、安井良則 谷口清州. 2011 年流行時における *Mycoplasma pneumoniae* 感染症による入院患者の臨床的検討 IASR Vol. 33 p. 162-163: 2012 年 6 月号
29. Miyasaka T, Tetsuji Aoyagi T, Uchiyama B, Oishi K, Nakayama T, Kinjo Y, Miyazaki Y, Kunishima H, Hirakata Y, Kaku K, Kawakami K. A possible relationship of natural killer T cells with humoral immune response to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in clinical settings. Vaccine, 30(22): 3304-3310, 2012
30. Oishi T, Ishiwada N, Matsubara K, Nishi J, Chang B, Tamura K, Akeda Y, Ihara T, Nahm MH, Oishi K, the Japanese IPD Study Group. Low opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease. Vaccine, 31: 845-849, 2013
31. Mori S, Ueki Y, Hirakata N, Oribe M, Oishi K. Impact of tocilizumab therapy on antibody response to influenza vaccine in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2012; 71:2006-10.
32. Mori S, Ueki Y, Akeda Y, Hirakata N, Oribe M, Shiohira Y, Hidaka T, Oishi K. Pneumococcal polysaccharide vaccination in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab therapy. Ann Rheum Dis 2013 Jan 23. [Epub ahead of print]
33. 日本内科学会成人予防接種検討ワーキンググループ編著. 二木芳人、大石和徳、川上和義、谷口清州、渡辺彰、渡邊浩. 成人予防接種のガイドンス. 日本内科学会雑誌. 101 : 3585-3597、2012
34. 原田真菜、中村明日香、李翼、新妻隆広、木下恵司、大日方薫、大石和徳、和田昭仁、石和田稔彦、清水俊明. 7 価肺炎 球菌結合型ワクチン1回接種後に24F血清型肺炎球菌性髄膜炎を発症した1例 .小児感染免疫 .24:253-257 , 2012
35. 明田幸宏、大石和徳 .肺炎球菌ワクチン 診断と治療 . 100(3) : 455-458、2012

36. 竹内壇、大石和徳 . <特集関連情報> タイにおける豚レンサ球菌感染症 . 病原微生物検出情報 . 33(8) : 9-10, 2012
37. 田村和世、大石和徳 . 話題の疾患と治療 肺炎球菌ワクチン . 感染炎症免疫 . 42(4) : 63-65, 2012
38. 竹内壇、大石和徳 . 豚レンサ球菌 (*Streptococcus suis*) による人獣共通感染症 . 感染症 . 43(1) : 24-28, 2013
39. 大石和徳 . 二次細菌感染対策とは? . インフルエンザの最新知識 Q&A 167-170, 2012 医薬ジャーナル社
40. 朴 貞玉、大石和徳 . マウス二次性肺炎球菌性肺炎に対する PspA ワクチンの感染防御効果 . 69-80, 2012. 医薬ジャーナル社 .
41. Takei S, Hotomi M, Yamanaka N. Minimal biofilm eradication concentration of antimicrobial agents against nontypeable Haemophilus influenzae isolated from middle ear fluids of intractable acute otitis media. J Infect Chemother. 2013, in press.
42. Hotomi M, Togawa A, Kono M, Ikeda Y, Takei S, Hollingshead SK, Briles DE, Suzuki K, Yamanaka N. PspA family distribution, antimicrobial resistance and serotype of Streptococcus pneumoniae isolated from upper respiratory tract infections in Japan. PLoS One. 2013;8(3):e58124.
43. Hotomi M, Togawa A, Takei S, Sugita G, Sugita R, Kono M, Fujimaki Y, Kamide Y, Uchizono A, Kanesada K, Sawada S, Okitsu N, Tanaka Y, Saijo Y, Yamanaka N. Evaluation of a rapid immunochromatographic ODK-0901 test for detection of pneumococcal antigen in middle ear fluids and nasopharyngeal secretions. PLoS One. 2012;7(3):e33620.
44. Mahadevan M, Navarro-Lochin G, Tan HKK, Yamanaka N, Sonsuwan N, Wang P, Dung NTN, Restuti RD, Hashim SSM, Vijayasekaran S. A review of the burden of disease due to otitis media in the Asia-Pacific. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2012, 76:623-635
45. 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. 140:1111-21, 2012.
46. Umeyama T, Ohno H, Minamoto F, Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, and Miyazaki Y. Determination of epidemiology of clinically isolated *Cryptococcus neoformans* strains in Japan by multilocus sequence typing. Jpn J Infect Dis 66: 51-55, 2013.
47. 日本内科学会成人予防接種検討ワーキンググループ編著: 二木 芳人、大石 和徳、川上 和義、谷口 清州、渡辺 彰、渡邊 浩「専門医部会 成人予防接種のガイダンス。」 日本内科学会雑誌、101:3585-3597, 2012.
48. Qin L, Kida Y, Imamura Y, Kuwano K and Watanabe H. Impaired capsular polysaccharide is relevant to enhanced biofilm formation and lower virulence in *Streptococcus pneumoniae*. J Infect Chemother, 2012 Dec 11. [Epub ahead of print]
49. 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.
50. 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.
51. Qin L, Zhou Z, Hu B, Yamamoto T, and Watanabe H. Antimicrobial susceptibilities and genetic characteristics of *Haemophilus influenzae* isolated from community acquired respiratory tract infection patients in Shanghai City, China. J Infect Chemother, 18: 508-514, 2012.
 52. Toyotome T, Yamaguchi M, Iwasaki A, Watanabe A, Taguchi H, Qin L, Watanabe H, Kamei K, Fetuin A, a serum component, promotes growth and biofilm formation by *Aspergillus fumigatus*. Int J Med Microbiol, 302: 108-116, 2012.
- 学会発表
1. Yashiro M., Morishima T. et.al: Difference in the profile of locally produced cytokines/chemokines in pneumonia and encephalitis of mice 16th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting, March, 2013, Singapore
 2. 山田睦子、八代将登、森島恒雄ら：インフルエンザ感染における局所サイトカイン・ケモカインの動態.第60回日本ウイルス学会.2012年11月/大阪
 3. 藤井洋輔、八代将登、森島恒雄ら：インフルエンザ感染における局所サイトカイン・ケモカインの動態.第116回日本小児科学会.2013年4月/広島
 4. 市古有里絵、岩附研子、野田岳志、河岡義裕「ハムスターにおけるインフルエンザウイルス飛沫伝播モデルの確立」2nd Negative Strand Virus-Japan Symposium, 沖縄、2013年1月15日
 5. Hamamoto I, Takaku H, Tashiro M, Yamamoto N. High yield production of influenza A virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7. 4th Influenza Vaccines for the World, Valencia, Spain, October 2012
 6. 浜本いつき、原田勇一、中村一哉、高橋仁、許斐奈美、浅沼秀樹、田代真人、山本典生 「無血清培地に馴化させた MDCK 細胞のインフルエンザワクチンシードウイルス分離用細胞としての検討」第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月
 7. 原田勇一、高橋 仁、中村一哉、浜本いつき、Roth Bernhard、Trusheim Heidi、許斐奈美、浅沼秀樹、板村繁之、田代真人、山本典生 「インフルエンザワクチンシードウイルス分離用細胞の評価」第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月
 8. 高橋 仁、原田勇一、中村一哉、浜本いつき、Bernhard Roth、Heidi Trusheim、板村繁之、田代真人、山本典生 「インフルエンザワクチンシードウイルスに求められる遺伝的安定性の検討」第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月
 9. Hamamoto I, Yamamoto N, Tashiro M. High yield production of influenza A virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7.United States-Japan Cooperative Medical Science Program, USJCMSP, Singapore, March 2013
 10. Hiroshi Kida, Yoshihiro Sakoda. How should we control highly pathogenic avian influenza, 8th International Symposium on Avian Influenza (2012, London)
 11. 「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)
 12. Hiroshi Kida: For the control of

- HPAI and preparedness for pandemic influenza」
Thailand-Japan Conference on Animal Health 2012 (2012, Bangkok)
13. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian Influenza. The Japan-China International Conference of Virology, Hokkaido University Graduate School of Medicine (2012, Sapporo)
 14. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian Influenza. The 6th International Veterinary Vaccine and Diagnostics Conference (2012, Cairns)
 15. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian Influenza and preparedness for pandemic influenza. 2012 Avian Influenza Prevention and Control Conference (2012, Tansui)
 16. 喜田宏 「鳥インフルエンザの正体とその克服法」日本食品科学工学会第59回大会 (2012年、札幌)
 17. 喜田宏 「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」第53回日本熱帯医学会シンポジウム (2012年、帯広)
 18. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian influenza and preparedness for pandemic influenza. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity (2012, Awaji)
 19. 岡松正敏、迫田義博、本橋友里恵、山本直樹、栗林沙弥、喜田宏 「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」第154回日本獣医学会学術集会 (2012年、盛岡)
 20. 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 「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」第154回日本獣医学会学術集会 (2012年、盛岡)
 21. 喜田宏 「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」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)
 22. 喜田宏 「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~」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)
 23. 喜田宏 「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」第60回日本ウイルス学会 (2012年、大阪)
 24. 山本直樹、迫田義博、曾田公輔、岡松正敏、喜田宏 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会 (2012年、大阪)
 25. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会 (2012年、大阪)
 26. 七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」第60回日本ウイルス学会学術集会 (2012年、大阪)

27. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
28. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
29. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
30. Hiroshi Kida: Points for the control of HPAI and preparedness for pandemic influenza. 2012 Japan, USA and Taiwan Joint Conference on Avian Influenza Prevention and Control, Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan（2012, Taipei）
31. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian and pandemic influenza The 17th FAVA Congress（2013, Taipei）
32. 日尾野隆大、岡松正敏、西原祥子、高瀬明、迫田義博、喜田宏 「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 2,3シアル酸糖鎖をレセプターとして認識する」2nd NSV-J（2013年、沖縄）
33. 七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」2nd NSV-J（2013年、沖縄）
34. Masatoshi Okamatsu, Yoshihiro Sakoda, Yurie Motohashi, Naoki Yamamoto, Saya Kuribayashi, Takaya Ichikawa, Hiroshi Kida. 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). The 4th International Young Researcher Seminar in Zoonosis Control (2012, Sapporo)
35. 日尾野隆大、岡松正敏、西原祥子、高瀬明、迫田義博、喜田宏 「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 2,3シアル酸糖鎖をレセプターとして認識する」第155回日本獣医学会学術集会（2013年、東京）
36. 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 「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」第155回日本獣医学会学術集会（2013年、東京）
37. 七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」第155回日本獣医学会学術集会（2013年、東京）
38. 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 「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」感染症若手フォーラム（2013年、北広島）
39. 安部優里、迫田義博、田村友和、長井誠、岡松正敏、喜田宏 「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」感染症若手フォーラム（2013年、北広島）
40. 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 「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」感染症若手フォーラム2013（2013年、北広島）
 41. 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
 42. 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
 43. 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
 44. 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
 45. 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
 46. 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
 47. 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
 48. 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
 49. 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
 50. 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
 51. 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
 52. 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.
53. 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
 54. 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.
 55. 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.
 56. 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.
 57. 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
 58. Tadatsugu Imamura, Asian-African
 Research Forum on Emerging and
 Reemerging Infections
 2013“Molecular analysis of
 Enterovirus 68 in the Philippines”
 59. N Fuji et al., Genetic Diversity of
 Rhinoviruses in the Philippines, Asia
 Africa Research Forum 2013, 23-24
 January 2013, Tokyo
 60. 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 ”
 61. Tadatsugu Imamura XV
 International Symposium on
 Respiratory Viral Infections
 “Molecular epidemiology and
 evolution of Enterovirus 68 in the
 Philippines, 2008-2011”
 62. 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
 63. 見理 剛. 次世代型 DNA シークエン
 サーによるマイコプラズマゲノムの
 解析研究. 日本マイコプラズマ学会
 第39回 学術集会 2012年5月
 24-25日 盛岡市.
 64. Hotomi M, Kono M, Sugita G,
 Togawa A, Ikeda Y, Yamanaka N:
 Clinical evaluation of a rapid
 immunochromatographic ODK-0901
 test for detecting pneumococcal
 antigen in middle ear fluids and
 nasopharyngeal secretions. The 8th
 International Symposium on
 Pneumococci and Pneumococcal
 Diseases. Iguacu Falls, Brazil, 2012
 65. Hotomi M, Arai J, Kono M,
Yamanaka N: Reduction of opaque
 phase variant of *Streptococcus*
pneumoniae by sub-MIC levels of
 macrolides. The 8th International
 Symposium on Pneumococci and
 Pneumococcal Diseases. Iguacu
 Falls, Brazil, 2012
 66. Kono M, Hotomi M, Hollingshead S,
 Briles D, Yamanaka N: Memory of
 PspA specific immune responses in
 offspring delivered from immunized
 mother mice. The 8th International
 Symposium on Pneumococci and
 Pneumococcal Diseases. Iguacu

- Falls, Brazil, 2012.
67. Watanabe H and Qin L. The relationship between biofilm formation and capsule in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. United States-Japan Cooperative Medical Science Program. 16th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting. Singapore, 2013.3.13.
 68. Kashiwagi T, Hara K, Nakazono Y, Uemura Y, Imamura Y, Hamada N and Watanabe H. The N-terminal fragment of influenza A virus (H5N1) PB2 subunit strongly inhibits its RNA-dependent RNA polymerase. United States-Japan Cooperative Medical Science Program. 16th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting. Singapore, 2013.3.13.
 69. 高橋大輔、北島牧子、秋田真依、山田真衣子、首藤敏夫、三浦美穂、升永憲治、渡邊 浩 「尿管管理に関連した環境改善に向けた取り組み」第28回日本環境感染学会総会、横浜、2013. 3. 1.
 70. 棚町千代子、橋本好司、田代尚崇、堀田吏乃、矢野知美、三浦美穂、升永憲治、渡邊 浩、石井一成、中島収 「当院に設置してある製氷機で作成された製氷の細菌汚染調査」第28回日本環境感染学会総会、横浜、2013. 3. 1.
 71. 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.
 72. 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.
 73. 秦 亮、上村勇作、酒井義郎、渡邊 浩 「Gene Expression Relevant to CPS Impaired *Streptococcus pneumoniae* in Biofilms and Planktonic Conditions」第55回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第82回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第60回日本化学療法学会西日本支部総会 合同大会、福岡、2012.11.7.
 74. 酒井義朗、内藤哲哉、靄田美恵子、三浦美穂、秦 亮、日高秀信、升永憲治、渡邊 浩 「ワルファリンとリネゾリドにおける相互作用の検討」第55回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第82回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第60回日本化学療法学会西日本支部総会 合同大会、福岡、2012.11.5.
 75. 渡邊 浩 「医療安全講習会、胸部外科医のための感染予防・アウトブレイク対策」第65回日本胸部外科学会定期学術集会、福岡、2012.10.17.
 76. 渡邊 浩 「シンポジウム3、予防接種の新たな時代へ—すべての渡航者にワクチンを、トラベルクリニックと予防接種」第16回日本渡航医学会学術集会、大阪、2012.7.21.
 77. 渡邊 浩 「ランチョンセミナー、 Dengue熱の臨床と予防」第16回日本渡航医学会学術集会、大阪、2012.7.21.
 78. 渡邊 浩 「シンポジウム2、渡航医学の普及に向けて—トラベルクリニックサポート事業、我が国における渡航医学の現状」第16回日本渡航医学会学術集会、大阪、2012.7.21.
 79. Qin L and Watanabe H 「Hospital Environmental Microbiology and Nosocomial Infections」 The annual joint congress of 21st National Conference on Nosocomial Infection of Chinese Preventive Medicine Association and 8th Shanghai International Forum of

- Infection Control(SIFIC). Ji'nan, China. 2012.5.25.
80. 渡邊 浩 「教育講演 8、インフルエンザ菌感染症とバイオフィーム；その治療」第 60 回 日本化学療法学会学術集会、長崎、2012.4.27.
 81. 秦 亮、日高秀信、渡邊 浩 「肺炎球菌バイオフィーム産生についての臨床的検討」第 60 回 日本化学療法学会学術集会、長崎、2012.4.27.
 82. 酒井義朗、鶴田美恵子、三浦美穂、秦 亮、日高秀信、升永憲治、渡邊 浩 「感染症カンファランス導入による抗菌薬使用状況の変化」第 60 回 日本化学療法学会学術集会、長崎、2012.4.26.
 83. 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.
 84. 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.
 85. 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.
 86. 秦 亮、渡邊 浩 「中国上海における一般病院由来インフルエンザ菌の薬剤感受性及び水平伝播についての研究」第 86 回 日本感染症学会総会、長崎、2012.4.25.
 87. 豊留孝仁、秦 亮、渡辺 哲、渡邊 浩、亀井克彦 「血清糖タンパク質 fetuin A が *Aspergillus fumigatus* 生育に及ぼす影響」第 86 回 日本感染症学会総会、長崎、2012.4.25.
 88. 重松紗有、堺 みゆき、曾原洋二、田島絵美、三浦美穂、升永憲治、渡邊 浩 「当院における清拭車運用状況と清拭車廃止に向けての取り組み」第 27 回日本環境感染学会総会、福岡、2012.2.4.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得（出願）
 - 細胞培養組成物、インフルエンザウイルスの生産方法、インフルエンザウイルスにつき特許出願 **特願 2012-93016(出願日 2012 年 4 月 16 日)**
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
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

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、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、～について検討をすすめた。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2011年に大流行したマイコプラズマ肺炎から分離したマイコプラズマのsubtypeや薬剤耐性の検討、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、バイオフィルム形成による難治化の病態、7価肺炎球菌ワクチン接種に伴う血清型の分布およびその変化、蛋白抗原による新しい分類およびワクチン候補などの検討を行った。

(結果と考察)

1. インフルエンザウイルス感染の重症化の病態

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。重症化の病態を解析するために、マウスの肺および脳で増殖する A/WSN33(H1N1)を用いてインフルエンザウイルスに対する局所免疫応答を検討したところ、肺炎群・脳炎群ともに G-CSF, IFN , IL-12, MCP-1, IP-10, TNF など、ほぼ同様の炎症性サイトカインが上昇していた。肺炎群では気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の IP-10 が、脳炎群では脳脊髄液 (CSF) 中に抗炎症性サイトカインである IL-10, IL-13 が有意に上昇していた。感染局所は病態を反映しやすいため、局所の免疫反応を評価することが重症インフルエンザの病態解析に重要であると考えられた。

2. インフルエンザウイルスの伝播形式

ハムスターにおいて、ヒトインフルエンザウイルスがどのように個体間伝播するかを明らかにするため、A/California/04/09(H1N1)を用いて、直接接触伝播試験および飛沫伝播試験を行い、伝播性を解析した。その結果、直接接触伝播試験では、実験に用いた全てのハムスターで伝播することが確認できた。さらに飛沫伝播試験では、4 匹中 2 匹で伝播が起こったことが確認できた。これらの結果から、A/California/04/09(H1N1)は、ハムスターにおいて飛沫を介した個体間伝播を起こすことが明らかとなり、ハムスターのインフルエンザウイルス飛沫感染モデルの可能性が示唆された。

3. インフルエンザワクチン

パンデミックの発生に備えて、短期間に大量のワクチンを供給する必要があるため、従来の孵化鶏卵培養法に代わり、MDCK 細胞などを用いた細胞培養法による新型インフルエンザワクチンの開発が進められている。しかし、パンデミックワクチンを短期間大量に必要とする際には、よりウイルス生産効率の優れた細胞を開発する必要がある。本研究では、細胞培養ワクチンの実用化に向けて従来の MDCK 細胞よりもウイルス増殖能力が高い新規 MDCK 細胞の開発を試みた。I 型インターフェロン (IFN) 誘導性遺伝子である IRF7 に対する shRNA を安定発現させた新規 MDCK 細胞にインフルエンザウイルスを感染させると、コントロール MDCK 細胞と比較して HA 価が 2~8 倍上昇した。また、新規 MDCK 細胞において A/PR8 株のウイルス増殖性改善による I 型 IFN 産生量への影響を調べた結果、I 型 IFN 産生制御機構と別の経路を介してウイルス産生量が有意に増加した。以上より、ウイルス高増殖性を示す新規 MDCK 細胞の樹立によって効率的なワクチンシードウイルスの分離増殖が可能となり、大量のワクチン供給体制の構築に繋がることが期待される。

4．鳥インフルエンザ

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。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。したがって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極めて重要である。

5．マイコプラズマ感染

2011 年後半から大流行しているマイコプラズマ肺炎の原因である *M. pneumoniae* の subtypes, 薬剤耐性、7 価肺炎球菌ワクチン(PCV7)の普及に伴う IPD における肺炎球菌血清型の変化、新しい肺炎球菌蛋白抗原による肺炎球菌の分類やワクチン候補としての研究が行われた。2011 年から流行しているマイコプラズマ肺炎では、患者から *M. pneumoniae* 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。

6．肺炎球菌ワクチン(PCV7)

小児市中肺炎に対する PCV7 導入効果の千葉市における検討では、5 歳未満小児市中肺炎入院数と、肺炎球菌性肺炎入院数の減少傾向があり、特に PCV7 含有血清型は著明な減少を認め、PCV7 導入による早期の効果が認められている。

7．肺炎球菌菌株共通抗原 PspA と新規ワクチン

新規ワクチン候補を検討するため、肺炎球菌蛋白抗原 PspA の検討が行われた。急性中耳炎、急性鼻副鼻腔炎あるいは急性咽頭・扁桃炎の患者における PspA の検討では、中耳貯留液、鼻汁、副鼻腔分泌液、咽頭分泌物から分離される肺炎球菌のほとんどは、PspA1 あるは PspA2 のいずれかに分類された。すなわち、PspA1 が 44.6%に、PspA2 が 49.4%に検出され、PspA 型の分離頻度は、莢膜血清型とは関連を示さなかった。さらに、いくつかの融合型 PspA を作成し、それに対する抗体の反応性を検討すると、ある特定の融合型 PspA 免疫によって得られたマウス特異抗体が全てのクレードの PspA に対して結合交差性を示し、また各種クレード発現肺炎球菌菌体に対する結合性、それらの致死感染モデルに対して感染防御効果を示した。以上のことから PspA を含めた肺炎球菌ワクチンは、血清型に関係なく肺炎球菌を広くカバーすることが可能であり、次世代の肺炎球菌ワクチン抗原として有用であると考えられた。

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、肺炎球菌やインフルエンザ菌などの細菌、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・制御を目的とし、行政への提言も視野に入れている。本研究のキーワードは、疫学的データの集積・特徴的な臨床像の解析、病態の解明、伝播形式の解明、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、～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)高原性鳥インフルエンザのモニタリングを行い、遺伝子、抗原性および動物に対する病原性を解明し、国際連携によるウイルス流行の対策を検討した。

インフルエンザ以外の呼吸器感染ウイルスの流行・伝播を検討するため、フィリピンでのエンテロウイルスやライノウイルスの季節性および地域による流行

様式の解析を行った。

細菌感染症においては2010年に本邦で認可され、2012年から本格的に普及しているPCV7の呼吸器感染症とその起炎菌、薬剤耐性菌の変化を検討し、さらにpost-PCV7の影響としての血清型の変化、その対策としての菌株共通蛋白抗原PspAの新規ワクチン候補としての検討をおこなった。さらに2011年から流行しているマイコプラズマ肺炎の起炎菌である*M.pneumoniae*の分子疫学的解析や呼吸器疾患の難治化の重要な原因であるバイオフィーム形成と肺炎球菌莢膜やインフルエンザ菌との関連についても研究を進めた。

B 研究方法

インフルエンザウイルス感染およびその他の呼吸器ウイルス感染

1. インフルエンザ関連脳炎/脳症や肺炎における局所の免疫応答を解明するため、インフルエンザによる肺炎と脳炎における全身および局所でのサイトカイン・ケモカインプロファイルを比較検討した。
2. 2009年にパンデミックを起こしたインフルエンザウイルス (A/California/04/09(H1N1)[Ca104]) を用いて、まず、ハムスターにおけるウイルスの増殖性について解析し、感染ハムスター：非感染ハムスターを同居飼育する直接接触伝播試験と、感染ハムスター：非感染ハムスターをメッシュ板で仕切って飼育する飛沫伝播

- 試験を行った。両試験とも、感染群へのウイルス接種から1日後に非感染群を同居させた。感染後、体重変化を観察するとともに、鼻腔洗浄液中のウイルス量と、中和抗体価を測定した。
3. コントロール MDCK 細胞と新規 MDCK 細胞に A/PR8 株(A/H1N1)、A/Narita/1/2009 株(A/H1N1pdm09)、B/Florida/4/2006 株(B/山形系統)、A/Victoria/361/2010 株(A/H3N2)感染後、培養上清中のウイルス液の HA 価を測定した。さらに、A/PR8 株感染後、培養上清中のウイルス RNA 及び細胞内 RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法にてウイルス産生量及び IFN- γ 産生量を定量し、比較検討した。
 4. 2010/11, 2011/12, 2012/13 のインフルエンザ流行期 3 シーズンに、発熱や呼吸器症状を主訴としてインフルエンザ感染症を疑われ、迅速検査を実施した小児において鼻汁を採取し、インフルエンザウイルスの分離と同定を行い、TCID 法でウイルス量(TCID₅₀/mL)を測定した。さらに、検体の培養細胞への感染により 1 度増殖させたウイルス液を用い、各種ノイラミニダーゼ阻害薬に対する IC₅₀ を解析した。NA 配列は検体から抽出した RNA を RT-PCR で増幅し決定した。
 5. 2008-2009 年、2009-2010 年、2010-2011 年、2011-12 年の 4 シーズンにおいてペイルート市のアメリカンペイルート大学外来を受診したインフルエンザ様疾患を呈する外来患者から鼻咽頭ぬぐい液を採取し、ウイルス A, B 迅速診断キットによるスクリーニングを行った。その後、迅速診断キット陽性検体を新潟大学に輸送し、MDCK 細胞にてウイルス分離を行い、培養検体から RNA を抽出し、cDNA 合成を行いリアルタイム PCR で型・亜型判定を行った。流行ウイルス株の特徴は、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シングし、ウイルス系樹解析により分析した。また、分離培養された各型・亜型ウイルス株選択した株で、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビルに対して NA 阻害剤感受性検査を行った。
 6. 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。
 7. 健常人ボランティアに対して、

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。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。中和抗体価の測定は、マイクロ中和試験により行った。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。

8. 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明らかにしており、今回、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ルシフェラーゼによるレポーターアッセイにより確認した。
9. フィリピン・レイテ島に位置する東ビサヤ地域医療センター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 名から鼻咽頭ぬぐい液を採取した。採取した検体から遺伝子を抽出し、PCR 法によりエンテロウイルス EV68 遺伝子の検出を行なった。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。

肺炎マイコプラズマ、呼吸器細菌 (肺炎球菌、インフルエンザ菌) 感染

1. マイコプラズマ肺炎

臨床分離株の遺伝子型別を行い、近年増加している variant 2a 菌のゲノムを解析した。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臨床疫学研究検討を行った。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 (176 例) の臨床情報を収集し、その治療効果を抗菌薬ごとに比較した。また、2007 年から 2012 年の間の 70 菌株 (倉敷中央病院) について、遺伝子型別、薬剤耐性を解析した。

2. 肺炎球菌表面蛋白 PspA の融合蛋白の交叉反応についての研究

PspA のファミリー 1 とファミリー 2 の抗原エピトープが存在する部分の遺伝子領域を制限酵素 *EcoRI* サイトで融合させ、pET28a(+)ベクターに挿入して、融合 PspA タンパク質発現ベクターを作成した。作成した各融合 PspA タンパク質発現ベクターを *E. coli* BL21(DE3)にそれぞれ形質転換し、融合 PspA タンパク質を大量発現させた。目的の融合タンパク質であることを確認後、各融合タンパク質とアジュバント(Alum+CpGK3)を C57/BL6j マウスに皮下接種し、血清中の抗 PspA 抗体価を測定した。融合 PspA タンパク質免疫血清中 IgG の各 PspA クレード肺炎球菌表面への結合能は 5 種類 PspA クレードを用いて、菌体に結合する蛍光強度をフローサイトメトリー法で測定した。さらに融合 PspA タンパク質免疫によるマウス致死性肺炎モデルの感染防御効果については、マウスに融合 PspA タンパク質の免疫を行い、PspA のクレード 1～5 を発現する肺炎球菌株 5 株を経鼻接種し、マウス致死性肺炎モデルを作成した。免疫マウスへの肺炎球菌感染後、2 週間にわたってその生存率を観察した。

3. 上気道感染症由来肺炎球菌の PspA 型、薬剤感受性、血清型の検討

2003 年 1 月から 5 月に耳鼻咽喉科領域感染症サーベイランスにより得られた肺炎球菌株 251 株を用いた。

ペニシリン G に対する感受性は米国 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 標準法に基づき検討し、ペニシリン G に対する MIC が、2 µg/ml をペニシリン耐性菌 (PRSP)、0.1~1 µg/ml をペニシリン中等度耐性菌 (PISP)、0.06 µg/ml をペニシリン感性菌 (PSSP) とした。PspA 型 (PspA family) の検討はプライマーとして、LSM12、SKH63、SKH52、SKH41、SKH42、SKH02、ply1、ply2 を用い、PCR 法により分類した (PspA 1 : LSM12/SKH63、PspA2 : LSM12/SKH52、PspA3 : SKH41/SKH42、*pspA* 遺伝子 : LSM12/SKH02、pneumolysin 遺伝子 : ply1/ply2)。

4. 小児肺炎、上気道感染症 (中耳炎、鼻副鼻腔炎) からの肺炎球菌の血清型

Statens 社製抗血清を用いた莢膜膨化反応によりおこなった。

5. バイオフィーム形成の検討

血清型別および PCR で判定された 26 株の β-lactamase-negative ampicillin-susceptible (BLNAS), 22 株の β-lactamase-negative ampicillin-resistant (BLNAR), 28 株の TEM-1 type β-lactamase-producing ampicillin-resistant (BLPAR) - Nontypeable *H. influenzae* (NTHi) と 23 株の *H. influenzae* type b (Hib) に対して Microtiter biofilm assay (MBA) によるバイオフィーム形成の比較検討を行った。

TIGR4 *S. pneumoniae* の莢膜欠損株を作成し、野生株との間で MBA, Confocal laser scanning microscopy (CLSM) によるバイオフィーム産生の比較検討を行った。

C 結果

インフルエンザウイルス感染症およびその他の呼吸器ウイルス感染症

1. ウイルス感染後の局所サイトカイン・ケモカインの動態

ウイルス感染に対する局所反応をみるために、肺炎群では BALF 中、脳炎群では CSF 中のサイトカイン・ケモカインを測定した。G-CSF、IFN、IL-6、RANTES、MCP-1、IL-12、KC、MIP-1、IP-10、TNF は両群で上昇が認められた。特に IP-10 は肺炎群において、他のサイトカイン・ケモカインと比較し、著明な上昇が認められた。また、IL-10、IL-13 は脳炎群でのみ上昇が認められた。局所で特徴があったサイトカイン・ケモカインは肺炎群では IP-10 であり、脳炎群では IL-10、IL-13 であった。IL-10 や IL-13 の抗炎症性サイトカインは肺炎群では上昇が認められず、脳炎群でのみ感染 3 日目、5 日目に対照群と比較し有意な上昇が認められた。IP-10 は特に肺炎群で上昇し、感染 3 日目、5 日目に対照群と比較し有意な上昇が認められた。

2. 新型インフルエンザの伝播様式の検

討

a) ハムスターにおけるウイルスの直接接触伝播

ハムスター 3 匹に Cal04 ウイルスを感染させ、ウイルス接種 1 日後に非感染ハムスター 3 匹を同一ケージに同居させ、体重変化と、鼻腔洗浄液中のウイルス量を測定した。その結果、接種ハムスターは、感染後 2 日目から体重が減少し、非感染ハムスターは 6 日目から体重が減少した。さらに、ウイルス接種から 4 日目（同居から 3 日目）または 8 日目（同居から 7 日目）に、3 匹全ての非感染ハムスターの鼻腔洗浄液からウイルスが検出された。このことから、Cal04 ウイルスが個体から個体へと接触伝播することが確認できた。b) ハムスターにおけるウイルスの飛沫伝播

ハムスターに Cal04 を感染させ、メッシュ板で 2 つに仕切ったケージの一方にて飼育した（1 匹/1 ケージ）。ウイルス接種 1 日後に、メッシュ板で仕切られたもう片方の区画に、非感染ハムスターを同居させ、飛沫伝播の有無を調べた（1 匹：1 匹/1 ケージ × 4 組）。その結果、非感染ハムスター 4 匹中 2 匹で、鼻腔洗浄液からウイルスが検出され、中和抗体価の上昇が認められた。このことから、Cal04 は、ハムスターにおいて飛沫を介したウイルス伝播を起こすことが確認された。

3. インフルエンザウイルス高増殖性を

示す新規 MDCK 細胞の開発

ヒト I 型 IFN 誘導性遺伝子群を標的とする siRNA スクリーニングの結果、IRF7 をノックダウンするとコントロールに比べて再現性良くウイルス産生量が 2~4 倍増加した。A549 細胞と同様、MDCK 細胞においても IRF7 をノックダウンするとコントロールと比較してウイルス産生量は約 4 倍まで増加した。shRNA コントロール細胞と shRNA_IRF7 発現細胞に A/PR8 株 (A/H1N1)、A/Narita/1/2009 株 (A/H1N1pdm09)、B/Florida/4/2006 株 (B/山形系統)、A/Victoria/361/2010 株 (A/H3N2) 感染後、培養上清中のウイルス液の HA 価を測定した結果、コントロール細胞と比較して 2~8 倍増加した。また、A/PR8 株感染後、培養上清中のウイルス RNA 及び細胞内 RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法にてウイルス産生量及び IFN- γ 産生量を定量した結果、ウイルス産生は改善されたが、I 型 IFN 産生能への影響は認められなかった。

4. 小児インフルエンザサーベイランス

2010/11, 2011/12, 2012/13 のインフルエンザ流行期 3 シーズンの小児インフルエンザ患者から、ノイラミニダーゼ阻害薬治療前後で経時的に検体を採取し、ウイルス分離と薬剤感受性の検討を行った。11 ヶ月児から治療後の回復期に分離された A(H1N1)pdm09 ウイルスは H275Y 変異

を有するオセルタミビル耐性ウイルスで、患者からのウイルス排泄は遷延した。本例以外には、現時点で耐性化の問題は発見されていないが、解析を継続中である。

5. 中東(レバノン)におけるインフルエンザサーベイランス

レバノンでは、季節性インフルエンザ流行は冬季であった。また、H1N1pdm09 の流行は 2009 年の 6 月及び 10 月から 11 月であった。また、各型、亜型の流行はヨーロッパと類似していた。また、系統樹解析によりレバノンで分離された株がその他の中東諸国とヨーロッパで分離された株、そしておそらくアジアの株と近縁であることが明らかになった。薬剤耐性ウイルスに関しては、2008-2009 年シーズンにおいて世界的に流行した季節性オセルタミビル耐性 H1N1 の限定的な流行と、地域レベルで 2009 年と 2010-2011 年シーズンにそれぞれ H275Y 変異と S247N 変異をもつ H1N1pdm09 が分離されたのみであった。

6. 鳥インフルエンザサーベイランス

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。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 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 系統に分類された。これらのウイルスは、同系統の参照株 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系統のウイルスでも、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。

7. 経鼻インフルエンザワクチンと交叉免疫応答

接種ワクチンとは異なる A/Sydney/05/97 に対する中和抗体価は、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。

8. インフルエンザウイルス遺伝子複製酵素サブユニットによる複製酵素阻害

サブユニット PB2 によって濃度依存的に WSN の遺伝子複製が阻害されることを確認した。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判明し、さらに 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ブラン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。

9. エンテロウイルス、ライノウイルス感染

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。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 ($p < 0.0001$)。EV68 の塩基配列にもとづく系統樹 (近隣結合法) では、Lineage 2 および Lineage 3 に分類され、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。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 年に米国に検出された株群と近縁に位置した。

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。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。

肺炎マイコプラズマ、呼吸器細菌 (肺炎球菌、インフルエンザ菌) 感染

1. マイコプラズマ肺炎

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。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、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。マクロライド耐性株は 46 株/70 株 (65.7%) で、そのほとんどが小児から分離された。治療においては、マクロライド治療群では対照群 (- 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。

2. 肺炎球菌表面蛋白 PspA の融合蛋白の交叉反応についての研究

融合 PspA タンパク質 A、B および C のいずれの免疫血清は、各クレードの PspA に対して結合性を示した。融合 PspA タンパク質 C の免疫血清は、クレード 1 ~ 5 のいずれの肺炎球菌株に対しても高い結合性を示した。融合 PspA タンパク質 A および B の免疫血清は、クレード 3 に対しては若干低い結合性を示したが、これ以外のクレードの肺炎球菌に対しては、高い結合性を示した。マウス致死的肺炎モデルの感染実験では、融合 PspA タンパク質 C による免疫マウスでは、PspA クレード 1 ~ 5 の肺炎球

菌株のいずれを感染させた場合でも有意な生存率の改善が認められた。融合 PspA タンパク質 A および B による免疫マウスでは、PspA クレード 2、4 または 5 の肺炎球菌株を感染させた場合に有意な生存率の改善が認められた。免疫血清中の IgG の臨床分離肺炎球菌株への結合能をみたところ、融合 PspA タンパク質 A、B および C による免疫血清のいずれにおいても、ほぼ全ての臨床分離肺炎球菌株 (93.5%) に対する IgG 結合能 (結合率 10%以上) を示した。

3. 上気道感染症由来肺炎球菌の PspA 型、薬剤感受性、血清型の検討

急性中耳炎、急性鼻副鼻腔炎などの急性上気道感染症から分離された肺炎球菌分離株 251 株の解析では、PspA 型の分離頻度は PspA1 が 44.6% に、PspA2 が 49.4% に検出され、ほとんどが PspA1&2 型に分類された。PspA 型の分離頻度は、年齢、性別、分離部位、ペニシリン G に対する感受性で差を認めなかった一方、*mefA* 遺伝子陽性株、血清型 15B 株、血清型 19F 株では、PspA2 株が多く認められた。PspA 型の分離頻度は、莢膜血清型とは関連を示さなかったことから PspA を含めた肺炎球菌ワクチンは、血清型に関係なく肺炎球菌を広くカバーすると考えられた。

4. 小児市中肺炎に対する 7 価肺炎球菌ワクチン(PCV7)の影響

肺炎入院症例は人口千人当たり 3.03 人/6 か月であった。喀痰を採取した 266 例中 52 例が細菌性肺炎 (5 歳未満小児の PCV7 接種率は 72%) と診断され、内訳は肺炎球菌 18 例 (6.8%)、インフルエンザ菌 28 例、モラキセラ・カタラーリス 6 例であった。血液培養陽性肺炎球菌株は 19A、22F、15A(2 株)の 4 株であった。喀痰培養陽性 18 株のうち 16 株を解析し、PCV7 含有血清型は 6B、14、19F、9V の計 4 株 (25%) であった。今回の検討では、5 歳未満小児市中肺炎入院数と、肺炎球菌性肺炎入院数の減少傾向があり、特に PCV7 含有血清型は著明な減少を認めた。

5. 肺炎球菌とインフルエンザ菌におけるバイオフィームと莢膜の関連

Microtiter biofilm assay (MBA) の平均値はそれぞれ 0.57(BLNAS-NTHi), 0.50(BLNAR-NTHi), 0.34(BLPACR-NTHi), 0.08(Hib)であった。Hib 株の多くは NTH 株に比べバイオフィーム産生は極めて低かったが、バイオフィーム産生を有する Hib 株は PCR で莢膜が欠損していたことが確認された。また、TIGR4 *S. pneumoniae* の莢膜欠損株と野生株とのバイオフィーム産生の比較検討では、莢膜欠損株の産生するバイオフィームの厚みは野生株の約 2 倍であった。以上の結果より、肺炎球菌と

インフルエンザ菌では莢膜はバイオフィルム産生に対し抑制的に関与していることが示唆された。

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(2013年3月シンガポール開催)。

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マイコプラズマ、肺炎球菌およびインフルエンザ菌の薬剤耐性化、菌株共通蛋白抗原の解析とワクチンへの応用、インフルエンザ菌によるバイオフィルム産生による病態の遷延化と肺炎球菌莢膜の影響などが解明され、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市中肺炎の臨床像や肺炎球菌血清型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やワクチン導入が積極的に進められているアジア(中国、バングラディッシュ)の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. インフルエンザウイルス感染症

インフルエンザウイルスは、従来の季節型インフルエンザに加え、パンデミックを起こした2009年H1N1インフルエンザや、アジアを中心に拡がりを見せている強毒型のH5N1鳥インフルエンザなど、ヒトにおける重要な病原体の1つである。また、インフルエンザは小児や、糖尿病・気管支喘息などの基礎疾患を持つ患者を中心に重症化しやすく、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)やインフルエンザ関連脳炎/脳症など重篤な病態を引き起こす。

インフルエンザA/H1N1/2009 pdmに感染し肺炎を引き起こした患者の血清中ではG-CSF、IL-6、IL-10、IL-15、TNFが上昇したとの報告があり、また、インフルエンザ肺炎マウスモデルにおいて血清中ではIL-1、IL-6、RANTES、KC(IL-8)が上昇し、BALF中ではIFN、KC(IL-8)、RANTES、MIP-2、MCP-1の上昇が認められたとの報告があるが、局所と全身の免疫

応答の相関については明確な結論が出ていない。本研究では、同一の病原体が異なる組織へ感染した場合の生体の反応を観察するため、多臓器に感染能を持つインフルエンザ A/WSN/33(H1N1)株を使用し、さらに感染部位を明確にさせるため、肺炎群は経鼻接種法、脳炎群は脳内接種法を用いて感染させ、全身および局所のサイトカインプロフィールを検討した。肺炎群、脳炎群ともに全身では炎症性サイトカイン・ケモカインの上昇が認められた。一方、局所において肺炎では炎症性サイトカイン・ケモカインが上昇し、脳炎では炎症性サイトカイン・ケモカインに加え抗炎症性サイトカイン・ケモカインの上昇が認められ、局所の免疫応答が異なっていることが判明した。局所は病態を反映しやすく、重症感染症の治療において局所反応の重要性が示され、適切な治療を行う上で、血液のみでなく感染局所の検索による病態把握が必要であることが強調された。

これまで、ヒトインフルエンザウイルスの個体間伝播に関する研究は、フェレットを用いて行われてきた。しかし、フェレットはマウスやラットに比べ、購入費や飼育費、扱いやすさなどの観点から、最適なモデル動物とはいえない。本研究ではハムスターへの感染実験および伝播様式の検討が行われ、A/California/04/09(H1N1)は、ハムスターにおいて飛沫を介した個体間伝播を起こすことが明らかとなり、ハムスターの

インフルエンザウイルス飛沫感染モデルの可能性が示唆された。今後は、他の季節性ヒトインフルエンザを用いて飛沫伝播実験を行い、飛沫伝播に関わるメカニズムやウイルス因子の解明が期待される。

インフルエンザ対策にはワクチン接種が有効とされているが、パンデミックの発生に備えて、短期間に大量のワクチンを供給する必要があるため、従来の孵化鶏卵培養法に代わり、細胞培養法を用いた新型インフルエンザワクチンの開発が進められている。MDCK 細胞はインフルエンザウイルスの分離効率及び増殖性が良いため、細胞培養インフルエンザワクチン製造に用いられる候補細胞の一つである。しかし、パンデミックワクチンを短期間大量に必要とする際には、よりウイルス生産効率の優れた細胞を開発する必要がある。I 型インターフェロン(IFN)誘導性遺伝子である IRF7 に対する shRNA を安定発現させた新規 MDCK 細胞にインフルエンザウイルスを感染させると、コントロール MDCK 細胞と比較して HA 価が 2~8 倍上昇した。また、新規 MDCK 細胞において A/PR8 株のウイルス増殖性改善による I 型 IFN 産生量への影響を調べた結果、I 型 IFN 産生制御機構と別の経路を介してウイルス産生量が有意に増加した。以上より、ウイルス高増殖性を示す新規 MDCK 細胞の樹立によって効率的なワクチンシードウイルスの分離増殖が可能となり、大量のワクチン供給体制の構築に繋がることを期待される。

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。本研究では国内、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 インフルエンザウイルスを分離同定し、その遺伝子的関連を検討した。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。

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と考えられる。

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。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、その交叉反応を検討した。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。すなわち、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、変異ウイルスに対しても中和効果が期待できることが判明し、経鼻免疫の有用性が確認された。

2 . 呼吸器マイコプラズマ・細菌感染症
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患者からは、subtype 1 の *M. pneumoniae* が多く分離され、マクロライド耐性株が 65.7%を占めた。この流行は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ことが危惧された。

現在市販されている肺炎球菌ワクチンでは 90 を越える肺炎球菌血清型から最大 23 価の各莢膜ポリサッカライドが抗原として含有されている。しかし莢膜ポリサッカライドのみでは 2 歳未満の小児に対して特異免疫誘導できない等の欠点

がある。小児用のコンジュゲートワクチン(PCV7)が開発され、本邦でも接種率が急激に高まっており、今回の検討では、5歳未満小児市中肺炎入院数と、肺炎球菌性肺炎入院数の減少傾向があり、特にPCV7含有血清型は著明な減少を認めた。しかし、海外では、ワクチン使用後の非ワクチン型による侵襲性感染症の増加が問題となっている。

現行肺炎球菌ワクチンの欠点を補う目的で、肺炎球菌表層タンパク質抗原の一つである肺炎球菌表面タンパク質A(PspA)による肺炎球菌臨床分離株の分類を行い、さらにPspA融合タンパク質を抗原とするワクチンの効果を調べた。中耳貯留液、鼻汁、副鼻腔分泌液、咽頭分泌物から分離される肺炎球菌のほとんどは、PspA1あるいはPspA2のいずれかに分類され、PspA型の分離頻度は、莢膜血清型とは関連を示さず、これらのことからPspAを含めた肺炎球菌ワクチンは、血清型に関係なく肺炎球菌を広くカバーすることが可能であり、次世代の肺炎球菌ワクチン抗原として有用であると考えられた。PspA1およびPspA2を融合した融合PspAタンパク質Cによる免疫マウスでは、PspAクレード1～5の肺炎球菌すべての肺炎モデルにおいて有意な生存率の改善が認められ、免疫血清中IgGは臨床分離肺炎球菌株への広域で高い結合能を示した。これらの結果から、融合PspAタンパク質Cは新規の肺炎球菌ワクチンの有望な抗原になり得ると考えられた。

肺炎球菌とインフルエンザ菌は中耳炎、肺炎、髄膜炎など様々な感染症の重要な原因菌である。この両菌は近年感染症難治化の原因とされるバイオフィルムを産生することが明らかとなった。莢膜は細菌の病原性とバイオフィルム産生のいずれにも関与しているとされているが、本研究により、肺炎球菌とインフルエンザ菌では莢膜はバイオフィルム産生に対し抑制的に関与していることが示唆され、呼吸器細菌感染症における遷延化の病態を理解する上で重要な知見と考えられた。

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
渡邊 浩	呼吸器疾患 2.インフルエンザ	泉 孝英	今日の診療のためにーガイドライン外来診療2012	日経メディカル開発	東京	2012	26-32
秦 亮 渡邊 浩	3章 細菌感染症： 3-2 インフルエンザ菌感染	感染症事典編集委員会	感染症事典	オーム社	東京	2012	57-62

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okumura A., Morishima T	Severe form of encephalopathy associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Japan.	J Clin Virol	56(1)	25-30	2013
Yashiro M., Morishima T	Redox-active protein thioredoxin-1 administration ameliorates influenza A virus (H1N1)-induced acute lung injury in mice	Crit Care Med	41(1)	171-81	2013
Okumura A., Morishima T.	Unexpected cardio-pulmonary arrest associated with influenza: our experience during the 2009 pandemic in Japan.	Influenza Other Respi Viruses.			2012
Sakabe S, et al.	Differences in cytokine production in human macrophages and in virulence in mice are attributable to the acidic polymerase protein of highly pathogenic influenza A virus subtype H5N1.	J Infect Dis	207	262-271	2013

Takano R, et al.	Molecular mechanisms underlying oseltamivir resistance mediated by an I117V substitution in the NA of H5N1 avian influenza viruses.	J Infect Dis	207	89-97	2013
Uraki R, et al.	Virulence determinants of pandemic A(H1N1)2009 influenza virus in a mouse model.	J Virol	87	2226-2233	2013
Inagaki A, et al.	Competitive incorporation of homologous gene segments of influenza A virus into virions.	J Virol	86	10200-10202	2013
Hamamoto I, et al.	High yield production of influenza virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7	PLoS One	8(3)	e59892	2013
高橋裕明,他	小児におけるインフルエンザ HA ワクチン接種量変更による効果と安全性の検討	感染症誌	87 巻 2 号	195-206	2013
Nakano T, et al.	Safety evaluation of laninamivir octanoate hydrate through analysis of adverse events reported during early post-marketing phase vigilance	Scand J Infect Dis	Early online publishing .	Early online publishing .	2013
Zaraket H, et al.	Genetic diversity and antiviral drug resistance of pandemic H1N1 2009 in Lebanon.	J Clin Virol	51 巻 3 号	170-174	2011

Sakoda, Y.et al.	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	93	541-550	2012
Nomura, N.et al.	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	71	441-447	2012
Nomura, N.et al.	Characterization of avian influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010.	Arch Virol	157	247-257	2012
Arikata, M.et al.	Memory immune responses against pandemic (H1N1) 2009 influenza virus induced by a whole particle vaccine in cynomolgus monkeys carrying Mafa-A1*052ratio02	PLoSOne	7	E37220	2012
Isoda, N. et al.	The nucleoprotein is responsible for interacerebral pathogenicity of A/duck/Mongolia/47/2001 (H7N1) in chicks.	Arch Virol	157	2257-2264	2012
Kajihara, M.et al.	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 pathogenicity in ducks.	Virol J	10	45	2013
Okamatsu, M.et al.	Potency of a vaccine prepared from A/swine/Hokkaido/2/1981 (H1N1) against A/Narita/1/2009 (H1N1) pandemic influenza virus strain.	Virol J	10	47	2013

Yamamoto, N. et al.	Proteins of duck influenza virus responsible for acquisition of pathogenicity in chickens.	Virus Res	In press		
Shichinohe, S. et al.	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	2013
Nakajima N, et al.	Pathological study of archival lung tissues from five fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam. Mod	Pathol. Epub	10.103	193	2012
Sasaki I, et al.	Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development	Blood Epub			2012
van Riet E, et al.	Mucosal IgA responses in influenza virus infections; thoughts for vaccine design.	Vaccine Epub	31;30(40)	5893-900	2012
Hamada N, et al.	Intrahost emergent dynamics of oseltamivir-resistant virus of pandemic influenza A (H1N1) 2009 in a fatally immune-compromised patient.	J Infect Chemother	18	865-871	2012
Nakazono Y, et al.	The RNA polymerase PB2 subunit of influenza A/HongKong/156/1997(H5N1) restricts the replication of reassortant ribonucleoprotein complexes.	PLoS ONE	7(2)	e32634	2012
Kenri T, et al.	Identification of Mycoplasma pneumoniae type 2b variant strains in Japan.	J. Med. Microbiol.	61(Pt 11)	1633-5	2012

鈴木里和、他	2011年流行時における Mycoplasma pneumoniae 感 染症による入院患者の臨床 的検討	IASR	33	162-163	2012
Miyasaka T, et al.	A possible relationship of natural killer T cells with humoral immune response to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in clinical settings.	Vaccine	33	3304-10	2012
Oishi T, et al.	Low opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease.	Vaccines	31	845-9	2013
Mori S, et al.	Impact of tocilizumab therapy on antibody response to influenza vaccine in patients with rheumatoid arthritis.	Ann Rheum Dis	71	2006-10	2012
Mori S, et al	Pneumococcal polysaccharide vaccination in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab therapy.	Ann Rheum Dis	Jan 23. [Epub ahead of print]		2013
Takei S, Hotomi M, <u>Yamanaka N.</u>	Minimal biofilm eradication concentration of antimicrobial agents against nontypeable Haemophilus influenzae isolated from middle ear fluids of intractable acute otitis media	J Infect Chemother	In press		2013
Hotomi M, et al.	PspA family distribution, antimicrobial resistance and serotype of Streptococcus pneumoniae isolated from upper respiratory tract infections in Japan	PLoS One	8(3)		2013

Hotomi M, et al.	Evaluation of a rapid immunochromatographic ODK-0901 test for detection of pneumococcal antigen in middle ear fluids and nasopharyngeal secretions	PLoS One	In press		2013
Tanaka J, et al.	Incidence of childhood pneumonia and serotype and sequence-type distribution in <i>Streptococcus pneumoniae</i> isolates in Japan.	Epidemiol Infect.	140	1111-21	2012
Umeyama T, et al.	Determination of epidemiology of clinically isolated <i>Cryptococcus neoformans</i> strains in Japan by multilocus sequence typing.	Jpn J Infect Dis	66	51-55	2013
二木 芳人、他	専門医部会 成人予防接種のガイドンス	日本内科学会雑誌	101	3585-3597	2012
Qin L, et al.	Impaired capsular polysaccharide is relevant to enhanced biofilm formation and lower virulence in <i>Streptococcus pneumoniae</i>	J Infect Chemother	Dec 11	[Epub ahead of print]	2012
Hamada N, et al.	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, et al.	The RNA polymerase PB2 subunit of influenza A/HongKong/156/1997(H5N1) restricts the replication of reassortant ribonucleoprotein complexes.	PLoS ONE	7(2)	e32634	2012
Qin L, et al.	Antimicrobial susceptibilities and genetic characteristics of <i>Haemophilus influenzae</i> isolated from community acquired respiratory tract infection patients in Shanghai City, China	J Infect Chemother	18	508-514	2012
Toyotome T, et al.	Fetuin A, a serum component, promotes growth and biofilm formation by <i>Aspergillus fumigatus</i>	Int J Med Microbiol	302	108-116	2012

F . 研究成果

論文発表

1. Okumura A., Morishima T.
et.al: Severe form of encephalopathy associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Japan. *J Clin Virol.* 56(1):25-30, 2013
2. Yashiro M., Morishima T. et.al:
Redox-active protein thioredoxin-1 administration ameliorates influenza A virus (H1N1)-induced acute lung injury in mice. *Crit Care Med.* 41(1):171-81, 2013
3. Okumura A., Morishima T.
et.al: Unexpected cardiopulmonary arrest associated with influenza: our experience during the 2009 pandemic in Japan. *Influenza Other Respi Viruses.* , 2012
4. Sakabe S, Takano R,
Nagamura-Inoue T, Yamashita N,
Nidom CA, Quynh Le MT,
Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y.
Differences in cytokine production in human macrophages and in virulence in mice are attributable to the acidic polymerase protein of highly pathogenic influenza A virus subtype H5N1. *J Infect Dis* 207:262-271, 2013.
5. Takano R, Kiso M, Igarashi M, Le QM, Sekijima M, Ito K, Takada A, Kawaoka Y. Molecular mechanisms underlying oseltamivir resistance mediated by an I117V substitution in the NA of H5N1 avian influenza viruses. *J Infect Dis* 207:89-97, 2013.
6. Uraki R, Kiso M, Shinya K, Goto H, Takano R, Iwatsuki-Horimoto K, Takahashi K, Daniels RS, Hungnes O, Watanabe T, Kawaoka Y. Virulence determinants of pandemic A(H1N1)2009 influenza virus in a mouse model. *J Virol* 87:2226-2233, 2013.
7. Inagaki A, Goto H, Kakugawa S, Ozawa M, Kawaoka Y. Competitive incorporation of homologous gene segments of influenza A virus into virions. *J Virol* 86:10200-10202, 2012.
8. Hamamoto I, Takaku H, Tashiro M, Yamamoto N.: High yield production of influenza virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7. *PLoS One* 8(3): e59892, 2013
9. 高橋裕明, 矢野拓弥, 福田美和, 山内昭則, 大熊和行, 庵原俊昭, 中野貴司, 松田正, 鳥越貞義, 二井立恵, 伊佐地真知子, 渡辺正博, 落合仁, 酒徳浩之, 加藤孝, 前田一洋, 奥野良信, 神谷齊: 小児におけるインフルエンザ HA ワクチン接種量変更による効果と安全性の検討. *感染症誌* . 87 (2): 195-206 . 2013
10. Takashi Nakano, Akihisa Okumura, Takuya Tanabe, Shimpei Niwa, Masato Fukushima, Rie Yonemochi, Hisano Eda, Hiroyuki Tsutsumi . Safety evaluation of laninamivir octanoate hydrate through analysis of adverse events reported during early post-marketing phase vigilance . *Scand J Infect Dis* . 2013 : Early online publishing .
11. 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* 93, 541-550, 2012
12. 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* 74, 441-447, 2012
13. 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* 157, 247-257, 2012
 14. 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. 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, 2012
 15. Isoda N, Tsuda Y, Asakura S, Okamatsu M, Sakoda Y and Kida H. The nucleoprotein is responsible for interacerebral pathogenicity of A/duck/Mongolia/47/2001 (H7N1) in chicks. *Arch Vrol* 157, 2257-2264, 2012
 16. Kajihara M, Sakoda Y, Soda K, Minari K, Okamatsu M, Takada A and Kida H. 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 pathogenicity in ducks. *Virology* 10, 45, 2013
 17. Okamatsu M, Sakoda Y, Hiono T, Yamamoto N and Kida H 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, 2013
 18. Yamamoto N, Soda K, Sakoda Y, Okamatsu M and Kida H. Proteins of duck influenza virus responsible for acquisition of pathogenicity in chickens. *Virus Res, in press*. 2013.
 19. Shichinohe S, Okamatsu M, Yamamoto N, Noda Y, Nomoto Y, Honda T, Takikawa N, Sakoda Y and Kida H 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, 2013
 20. 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]
 21. 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, Aina 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]
 22. van Riet E, Aina 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.
 23. 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.
24. 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. 2012 Feb;84(2):336-44.
25. 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.
26. 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.
27. 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
28. 鈴木里和 堀野敦子 見理 剛 佐々木裕子 柴山恵吾、安井良則 谷口清州. 2011 年流行時における *Mycoplasma pneumoniae* 感染症による入院患者の臨床的検討 IASR Vol. 33 p. 162-163: 2012 年 6 月号
29. Miyasaka T, Tetsuji Aoyagi T, Uchiyama B, Oishi K, Nakayama T, Kinjo Y, Miyazaki Y, Kunishima H, Hirakata Y, Kaku K, Kawakami K. A possible relationship of natural killer T cells with humoral immune response to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in clinical settings. Vaccine, 30(22): 3304-3310, 2012
30. Oishi T, Ishiwada N, Matsubara K, Nishi J, Chang B, Tamura K, Akeda Y, Ihara T, Nahm MH, Oishi K, the Japanese IPD Study Group. Low opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease. Vaccine, 31: 845-849, 2013
31. Mori S, Ueki Y, Hirakata N, Oribe M, Oishi K. Impact of tocilizumab therapy on antibody response to influenza vaccine in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2012; 71:2006-10.
32. Mori S, Ueki Y, Akeda Y, Hirakata N, Oribe M, Shiohira Y, Hidaka T, Oishi K. Pneumococcal polysaccharide vaccination in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab therapy. Ann Rheum Dis 2013 Jan 23. [Epub ahead of print]
33. 日本内科学会成人予防接種検討ワーキンググループ編著. 二木芳人、大石和徳、川上和義、谷口清州、渡辺彰、渡邊浩. 成人予防接種のガイドンス. 日本内科学会雑誌. 101 : 3585-3597、2012
34. 原田真菜、中村明日香、李翼、新妻隆広、木下恵司、大日方薫、大石和徳、和田昭仁、石和田稔彦、清水俊明. 7 価肺炎 球菌結合型ワクチン1回接種後に24F血清型肺炎球菌性髄膜炎を発症した1例 .小児感染免疫 .24:253-257 , 2012
35. 明田幸宏、大石和徳 .肺炎球菌ワクチン 診断と治療 . 100(3) : 455-458、2012

36. 竹内壇、大石和徳 . <特集関連情報> タイにおける豚レンサ球菌感染症 . 病原微生物検出情報 . 33(8) : 9-10, 2012
37. 田村和世、大石和徳 . 話題の疾患と治療 肺炎球菌ワクチン . 感染炎症免疫 . 42(4) : 63-65, 2012
38. 竹内壇、大石和徳 . 豚レンサ球菌 (*Streptococcus suis*) による人獣共通感染症 . 感染症 . 43(1) : 24-28, 2013
39. 大石和徳 . 二次細菌感染対策とは? . インフルエンザの最新知識 Q&A 167-170, 2012 医薬ジャーナル社
40. 朴 貞玉、大石和徳 . マウス二次性肺炎球菌性肺炎に対する PspA ワクチンの感染防御効果 . 69-80, 2012. 医薬ジャーナル社 .
41. Takei S, Hotomi M, Yamanaka N. Minimal biofilm eradication concentration of antimicrobial agents against nontypeable Haemophilus influenzae isolated from middle ear fluids of intractable acute otitis media. J Infect Chemother. 2013, in press.
42. Hotomi M, Togawa A, Kono M, Ikeda Y, Takei S, Hollingshead SK, Briles DE, Suzuki K, Yamanaka N. PspA family distribution, antimicrobial resistance and serotype of Streptococcus pneumoniae isolated from upper respiratory tract infections in Japan. PLoS One. 2013;8(3):e58124.
43. Hotomi M, Togawa A, Takei S, Sugita G, Sugita R, Kono M, Fujimaki Y, Kamide Y, Uchizono A, Kanesada K, Sawada S, Okitsu N, Tanaka Y, Saijo Y, Yamanaka N. Evaluation of a rapid immunochromatographic ODK-0901 test for detection of pneumococcal antigen in middle ear fluids and nasopharyngeal secretions. PLoS One. 2012;7(3):e33620.
44. Mahadevan M, Navarro-Locsin G, Tan HKK, Yamanaka N, Sonsuwan N, Wang P, Dung NTN, Restuti RD, Hashim SSM, Vijayasekaran S. A review of the burden of disease due to otitis media in the Asia-Pacific. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2012, 76:623-635
45. 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. 140:1111-21, 2012.
46. Umeyama T, Ohno H, Minamoto F, Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, and Miyazaki Y. Determination of epidemiology of clinically isolated *Cryptococcus neoformans* strains in Japan by multilocus sequence typing. Jpn J Infect Dis 66: 51-55, 2013.
47. 日本内科学会成人予防接種検討ワーキンググループ編著: 二木 芳人、大石 和徳、川上 和義、谷口 清州、渡辺 彰、渡邊 浩「専門医部会 成人予防接種のガイドンス。」 日本内科学会雑誌、101:3585-3597, 2012.
48. Qin L, Kida Y, Imamura Y, Kuwano K and Watanabe H. Impaired capsular polysaccharide is relevant to enhanced biofilm formation and lower virulence in *Streptococcus pneumoniae*. J Infect Chemother, 2012 Dec 11. [Epub ahead of print]
49. 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.
50. 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.
51. Qin L, Zhou Z, Hu B, Yamamoto T, and Watanabe H. Antimicrobial susceptibilities and genetic characteristics of *Haemophilus influenzae* isolated from community acquired respiratory tract infection patients in Shanghai City, China. J Infect Chemother, 18: 508-514, 2012.
 52. Toyotome T, Yamaguchi M, Iwasaki A, Watanabe A, Taguchi H, Qin L, Watanabe H, Kamei K, Fetuin A, a serum component, promotes growth and biofilm formation by *Aspergillus fumigatus*. Int J Med Microbiol, 302: 108-116, 2012.
- 学会発表
1. Yashiro M., Morishima T. et.al: Difference in the profile of locally produced cytokines/chemokines in pneumonia and encephalitis of mice 16th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting, March, 2013, Singapore
 2. 山田睦子、八代将登、森島恒雄ら：インフルエンザ感染における局所サイトカイン・ケモカインの動態.第 60 回日本ウイルス学会.2012 年 11 月 / 大阪
 3. 藤井洋輔、八代将登、森島恒雄ら：インフルエンザ感染における局所サイトカイン・ケモカインの動態.第 116 回日本小児科学会.2013 年 4 月 / 広島
 4. 市古有里絵、岩附研子、野田岳志、河岡義裕「ハムスターにおけるインフルエンザウイルス飛沫伝播モデルの確立」2nd Negative Strand Virus-Japan Symposium, 沖縄、2013 年 1 月 15 日
 5. Hamamoto I, Takaku H, Tashiro M, Yamamoto N. High yield production of influenza A virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7. 4th Influenza Vaccines for the World, Valencia, Spain, October 2012
 6. 浜本いつき、原田勇一、中村一哉、高橋仁、許斐奈美、浅沼秀樹、田代真人、山本典生 「無血清培地に馴化させた MDCK 細胞のインフルエンザワクチンシードウイルス分離用細胞としての検討」第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月
 7. 原田勇一、高橋 仁、中村一哉、浜本いつき、Roth Bernhard、Trusheim Heidi、許斐奈美、浅沼秀樹、板村繁之、田代真人、山本典生 「インフルエンザワクチンシードウイルス分離用細胞の評価」第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月
 8. 高橋 仁、原田勇一、中村一哉、浜本いつき、Bernhard Roth、Heidi Trusheim、板村繁之、田代真人、山本典生 「インフルエンザワクチンシードウイルスに求められる遺伝的安定性の検討」第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月
 9. Hamamoto I, Yamamoto N, Tashiro M. High yield production of influenza A virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7.United States-Japan Cooperative Medical Science Program, USJCMSP, Singapore, March 2013
 10. Hiroshi Kida, Yoshihiro Sakoda. How should we control highly pathogenic avian influenza, 8th International Symposium on Avian Influenza (2012, London)
 11. 「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)
 12. Hiroshi Kida: For the control of

- HPAI and preparedness for pandemic influenza」
Thailand-Japan Conference on Animal Health 2012 (2012, Bangkok)
13. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian Influenza. The Japan-China International Conference of Virology, Hokkaido University Graduate School of Medicine (2012, Sapporo)
 14. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian Influenza. The 6th International Veterinary Vaccine and Diagnostics Conference (2012, Cairns)
 15. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian Influenza and preparedness for pandemic influenza. 2012 Avian Influenza Prevention and Control Conference (2012, Tansui)
 16. 喜田宏 「鳥インフルエンザの正体とその克服法」日本食品科学工学会第59回大会 (2012年、札幌)
 17. 喜田宏 「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」第53回日本熱帯医学会シンポジウム (2012年、帯広)
 18. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian influenza and preparedness for pandemic influenza. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity (2012, Awaji)
 19. 岡松正敏、迫田義博、本橋友里恵、山本直樹、栗林沙弥、喜田宏 「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」第154回日本獣医学会学術集会 (2012年、盛岡)
 20. 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 「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」第154回日本獣医学会学術集会 (2012年、盛岡)
 21. 喜田宏 「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」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)
 22. 喜田宏 「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~」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)
 23. 喜田宏 「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」第60回日本ウイルス学会 (2012年、大阪)
 24. 山本直樹、迫田義博、曾田公輔、岡松正敏、喜田宏 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会 (2012年、大阪)
 25. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会 (2012年、大阪)
 26. 七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」第60回日本ウイルス学会学術集会 (2012年、大阪)

27. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
28. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
29. 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 「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」第60回日本ウイルス学会学術集会（2012年、大阪）
30. Hiroshi Kida: Points for the control of HPAI and preparedness for pandemic influenza. 2012 Japan, USA and Taiwan Joint Conference on Avian Influenza Prevention and Control, Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan（2012, Taipei）
31. Hiroshi Kida: For the control of highly pathogenic avian and pandemic influenza The 17th FAVA Congress（2013, Taipei）
32. 日尾野隆大、岡松正敏、西原祥子、高瀬明、迫田義博、喜田宏 「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 2,3シアル酸糖鎖をレセプターとして認識する」2nd NSV-J（2013年、沖縄）
33. 七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」2nd NSV-J（2013年、沖縄）
34. Masatoshi Okamatsu, Yoshihiro Sakoda, Yurie Motohashi, Naoki Yamamoto, Saya Kuribayashi, Takaya Ichikawa, Hiroshi Kida. 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). The 4th International Young Researcher Seminar in Zoonosis Control (2012, Sapporo)
35. 日尾野隆大、岡松正敏、西原祥子、高瀬明、迫田義博、喜田宏 「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 2,3シアル酸糖鎖をレセプターとして認識する」第155回日本獣医学会学術集会（2013年、東京）
36. 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 「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」第155回日本獣医学会学術集会（2013年、東京）
37. 七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏 「鳥インフルエンザウイルスがブタに感染するとSA 2,6Galレセプターを認識するウイルスが選択される」第155回日本獣医学会学術集会（2013年、東京）
38. 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 「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」感染症若手フォーラム（2013年、北広島）
39. 安部優里、迫田義博、田村友和、長井誠、岡松正敏、喜田宏 「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」感染症若手フォーラム（2013年、北広島）
40. 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 「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」感染症若手フォーラム2013（2013年、北広島）
 41. 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
 42. 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
 43. 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
 44. 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
 45. 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
 46. 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
 47. 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
 48. 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
 49. 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
 50. 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
 51. 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
 52. 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.
53. 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
 54. 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.
 55. 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.
 56. 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.
 57. 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
 58. Tadatsugu Imamura, Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2013“Molecular analysis of Enterovirus 68 in the Philippines”
 59. N Fuji et al., Genetic Diversity of Rhinoviruses in the Philippines, Asia Africa Research Forum 2013, 23-24 January 2013, Tokyo
 60. 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 ”
 61. Tadatsugu Imamura XV International Symposium on Respiratory Viral Infections “Molecular epidemiology and evolution of Enterovirus 68 in the Philippines, 2008-2011”
 62. 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
 63. 見理 剛. 次世代型 DNA シークエンサーによるマイコプラズマゲノムの解析研究. 日本マイコプラズマ学会 第 39 回 学術集会 2012 年 5 月 24-25 日 盛岡市.
 64. Hotomi M, Kono M, Sugita G, Togawa A, Ikeda Y, Yamanaka N: Clinical evaluation of a rapid immunochromatographic ODK-0901 test for detecting pneumococcal antigen in middle ear fluids and nasopharyngeal secretions. The 8th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Iguacu Falls, Brazil, 2012
 65. Hotomi M, Arai J, Kono M, Yamanaka N: Reduction of opaque phase variant of *Streptococcus pneumoniae* by sub-MIC levels of macrolides. The 8th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Iguacu Falls, Brazil, 2012
 66. Kono M, Hotomi M, Hollingshead S, Briles D, Yamanaka N: Memory of PspA specific immune responses in offspring delivered from immunized mother mice. The 8th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Iguacu

- Falls, Brazil, 2012.
67. Watanabe H and Qin L. The relationship between biofilm formation and capsule in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. United States-Japan Cooperative Medical Science Program. 16th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting. Singapore, 2013.3.13.
 68. Kashiwagi T, Hara K, Nakazono Y, Uemura Y, Imamura Y, Hamada N and Watanabe H. The N-terminal fragment of influenza A virus (H5N1) PB2 subunit strongly inhibits its RNA-dependent RNA polymerase. United States-Japan Cooperative Medical Science Program. 16th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting. Singapore, 2013.3.13.
 69. 高橋大輔、北島牧子、秋田真依、山田真衣子、首藤敏夫、三浦美穂、升永憲治、渡邊 浩 「尿管管理に関連した環境改善に向けた取り組み」第28回日本環境感染学会総会、横浜、2013. 3. 1.
 70. 棚町千代子、橋本好司、田代尚崇、堀田吏乃、矢野知美、三浦美穂、升永憲治、渡邊 浩、石井一成、中島収 「当院に設置してある製氷機で作成された製氷の細菌汚染調査」第28回日本環境感染学会総会、横浜、2013. 3. 1.
 71. 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.
 72. 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.
 73. 秦 亮、上村勇作、酒井義郎、渡邊 浩 「Gene Expression Relevant to CPS Impaired *Streptococcus pneumoniae* in Biofilms and Planktonic Conditions」第55回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第82回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第60回日本化学療法学会西日本支部総会 合同大会、福岡、2012.11.7.
 74. 酒井義朗、内藤哲哉、靄田美恵子、三浦美穂、秦 亮、日高秀信、升永憲治、渡邊 浩 「ワルファリンとリネゾリドにおける相互作用の検討」第55回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第82回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第60回日本化学療法学会西日本支部総会 合同大会、福岡、2012.11.5.
 75. 渡邊 浩 「医療安全講習会、胸部外科医のための感染予防・アウトブレイク対策」第65回日本胸部外科学会定期学術集会、福岡、2012.10.17.
 76. 渡邊 浩 「シンポジウム3、予防接種の新たな時代へ—すべての渡航者にワクチンを、トラベルクリニックと予防接種」第16回日本渡航医学会学術集会、大阪、2012.7.21.
 77. 渡邊 浩 「ランチョンセミナー、 Dengue熱の臨床と予防」第16回日本渡航医学会学術集会、大阪、2012.7.21.
 78. 渡邊 浩 「シンポジウム2、渡航医学の普及に向けて—トラベルクリニックサポート事業、我が国における渡航医学の現状」第16回日本渡航医学会学術集会、大阪、2012.7.21.
 79. Qin L and Watanabe H 「Hospital Environmental Microbiology and Nosocomial Infections」 The annual joint congress of 21st National Conference on Nosocomial Infection of Chinese Preventive Medicine Association and 8th Shanghai International Forum of

- Infection Control(SIFIC). Ji'nan, China. 2012.5.25.
80. 渡邊 浩 「教育講演 8、インフルエンザ菌感染症とバイオフィーム；その治療」第 60 回 日本化学療法学会学術集会、長崎、2012.4.27.
 81. 秦 亮、日高秀信、渡邊 浩 「肺炎球菌バイオフィーム産生についての臨床的検討」第 60 回 日本化学療法学会学術集会、長崎、2012.4.27.
 82. 酒井義朗、鶴田美恵子、三浦美穂、秦 亮、日高秀信、升永憲治、渡邊 浩 「感染症カンファランス導入による抗菌薬使用状況の変化」第 60 回 日本化学療法学会学術集会、長崎、2012.4.26.
 83. 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.
 84. 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.
 85. 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.
 86. 秦 亮、渡邊 浩 「中国上海における一般病院由来インフルエンザ菌の薬剤感受性及び水平伝播についての研究」第 86 回 日本感染症学会総会、長崎、2012.4.25.
 87. 豊留孝仁、秦 亮、渡辺 哲、渡邊 浩、亀井克彦 「血清糖タンパク質 fetuin A が *Aspergillus fumigatus* 生育に及ぼす影響」第 86 回 日本感染症学会総会、長崎、2012.4.25.
 88. 重松紗有、堺 みゆき、曾原洋二、田島絵美、三浦美穂、升永憲治、渡邊 浩 「当院における清拭車運用状況と清拭車廃止に向けての取り組み」第 27 回日本環境感染学会総会、福岡、2012.2.4.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得（出願）
細胞培養組成物、インフルエンザウイルスの生産方法、インフルエンザウイルスにつき特許出願 **特願 2012-93016(出願日 2012 年 4 月 16 日)**
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
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