

Characteristics of influenza virus epidemic strains in 2005-2006 season in Mongolia. *Mongolia J. Infect. Dis. Res.* 14, 2-6, 2007

・ Ichinohe T, Tamura S, Kawaguchi A, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Mitchell WM, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Cross-Protection against H5N1 Influenza Virus Infection Is Afforded by Intranasal Inoculation with Seasonal Trivalent Inactivated Influenza Vaccine. *J Infect Dis.* 2007 Nov 1;196(9):1313-20

・ Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C(12)U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. *Microbes Infect.* 2007 Sep;9(11):1333-40.

・ Ichinohe T, Nagata N, Strong P, Tamura S, Takahashi H, Ninomiya A, Imai M, Odagiri T, Tashiro M, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Prophylactic effects of chitin microparticles on highly pathogenic H5N1 influenza virus. *J Med Virol.* 79(6):811-9, 2007.

・ Masaki Imai, Kazunori Kawasaki, and Takato Odagiri Cytoplasmic domain of influenza B virus BM2 protein plays critical roles in production of infectious virus. *J. Virol.* 82, 728-739, 2008

2 学会発表

・ 小田切孝人 高病原性鳥インフルエンザと新型インフルエンザ対策 平成 18 年度稀少感染症診断技術研修会 2 月 (2007)

・ Masaki Imai, Kazunori Kawasaki, and Takato Odagiri The cytoplasmic domain of influenza B virus BM2 protein plays critical roles for the production of influenza virus. *Options for the Control of Influenza VI*, Tronto, June, 2007.

・ CA Russell, TC Jones, IG Barr, NJ Cox, K Fukuda, V Gregory, I Gust, AW Hampson, AJ Hay, AC Hurt, JC de Jong, AI Klimov, AS Lapedes, YP Lin, A Mosterin, T Odagiri, ADME Osterhaus, GF Rimmelzwaan, MW Shaw, E Skepner, K Stohr, M Tashiro, WQ Zhang, RAM Fouchier, DJ Smith Global patterns in the evolution and

epidemiology of influenza A(H3N2) virus from 2002 to 2007. *Options for the Control of Influenza VI*, Tronto, June, 2007.

・ Takato Odagiri International support for influenza surveillance and control in Lao PDR. NIC review Meeting at Vientiane, Lao PDR. October, 2007.

・ Takato Odagiri Update of influenza surveillance information and vaccine strain selection-Northern and Southern Hemisphere. NIC review Meeting at Vientiane, Lao PDR. October, 2007.

・ 小田切孝人、小淵正次、影山努、板村繁之、今井正樹、二宮愛、氏家誠、田代真人 2006/07 シーズンのインフルエンザ流行株と平成 19 年度のワクチン株 第 55 回日本ウイルス学会、札幌、10 月 (2007)

・ 川上千春、小淵正次、七種美和子、野口有三、小田切孝人、田代真人 インフルエンザ市中流行株における NA 阻害薬耐性 A 型ウイルスの解析 第 55 回日本ウイルス学会、札幌、10 月 (2007)

・ 高橋宣聖、阿戸学、北原玄太、二宮愛、小田切孝人、田代真人、小林和夫 H5N1 型プレパンドミックワクチンによる感染防御メカニズムの解析 第 55 回日本ウイルス学会、札幌、10 月 (2007)

・ 今井正樹、影山努、氏家誠、納富継宣、峰川晴美、田代真人、小田切孝人 LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 法による H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス遺伝子検出系の開発 II 第 55 回日本ウイルス学会、札幌、10 月 (2007)

・ 影山努、今井正樹、二宮愛、氏家誠、田代真人、小田切孝人 Real-time RT-PCR 法による H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス核酸検出系の構築 第 55 回日本ウイルス学会、札幌、10 月 (2007)

・ 池野大介、来海和彦、工藤康博、後藤修郎、板村繁之、小田切孝人、田代真人、城野洋一郎 マウスにおけるプレパンドミックワクチンによるプライミング効果の検討 第 11 回日本ワクチン学会 横浜 12 月、2007

G 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

ノイラミニダーゼ阻害剤投与を受けた患者から分離されたインフルエンザウイルスの阻害剤感受性試験

分担研究者 西藤岳彦 農業・食品産業技術研究機構 動物衛生研究所人獣感染症研究チーム

協力研究者 鈴木宏、齋藤玲子 新潟大学大学院医歯学総合研究科 国際感染医学講座公衆衛生分野

研究要旨 ノイラミニダーゼ阻害剤による生体内での抵抗性株の出現の可能性を検討するため、2006/07 インフルエンザシーズンにノイラミニダーゼ阻害剤によるインフルエンザ治療を受けた患者計 11 名の治療前後に分離されたウイルスについて、ノイラミニダーゼ阻害剤に対する感受性を検討した。また、ノイラミニダーゼ阻害剤治療を受けた患者とその家族(計 20 組)から分離されたウイルス 42 株についても同様の検討を行った。今回の解析では、ノイラミニダーゼ阻害剤治療による耐性の獲得は認められなかった。

A. 研究目的

新型インフルエンザウイルスによる大流行(パンデミック)発生時に、健康および社会的被害を低減させる為には新型用ワクチンおよびノイラミニダーゼ阻害剤が使用される。しかし、新型用ワクチンは新型インフルエンザウイルスが発生してから、その抗原性の解析、ワクチン製造株の作成、およびワクチンの製造と言った複数の段階が存在するため新型発生の初期段階にはワクチンが供給できないと考えられている。このため、新型発生の初期段階には、現在認可されている抗インフルエンザ薬であるアマンタジンおよびノイラミニダーゼ阻害剤が大量に使用されることになる。アマンタジンは、抗インフルエンザ薬としての使用実績が長く、耐性株の出現頻度や出現機序がよく知られている。一方、ノイラミニダーゼ阻害剤は比較的新しい抗インフルエンザ薬であるため、耐性株の出現頻度などに関する基礎的知見がまだまだ不足している。

本研究では抗ノイラミニダーゼ阻害剤に対する耐性株出現に関する知見の蓄積を目的として、本年度は福岡、群馬、長野の一般医療機関をインフルエン

ザで受診し、ノイラミニダーゼ阻害剤治療を受けた患者を対象にノイラミニダーゼ阻害剤による治療前と治療後に分離されたインフルエンザウイルスに対するノイラミニダーゼ阻害剤タミフル活性体(GS4071)およびザナミビアのノイラミニダーゼ活性 50%阻害濃度(IC50)を蛍光色素法を用いて測定した。また、ノイラミニダーゼ阻害剤治療を受けた患者からの家族内感染が疑われる症例についてもウイルス分離を行い、ノイラミニダーゼ阻害剤に対するノイラミニダーゼ活性 50%阻害濃度(IC50)を測定した。

B. 研究方法

新潟大学大学院 医歯学総合研究科 国際感染医学講座 公衆衛生分野において 2006/07 インフルエンザシーズンにインフルエンザ感染により福岡、群馬、長野の一般医療機関を受診した患者を対象とし、ノイラミニダーゼ阻害剤治療前の検体およびノイラミニダーゼ阻害剤投与後の再診時に検体を採取し、ウイルス分離を行った。

耐性株の家族間感染の可能性を検討するため

に、京都の一般医療機関を受診し、ノイラミニダーゼ阻害剤治療を受けた患者と、その患者からの家族間感染と考えられる患者からそれぞれ初診時に検体を採取し、ウイルス分離を行った。

分離ウイルスに対するノイラミニダーゼ阻害剤であるタミフル活性体 (GS4071) およびザナミビアのノイラミニダーゼ活性 50%阻害濃度は、蛍光基質 2'-(4-methylumbelliferyl)- α -D-N-acetylneuraminic acid (MUNANA) を用いた蛍光測定法によって測定した。陽性対照として、H1 亜型は A/Texas/36/91 親株および H274Y 変異株、H3 亜型は A/Texas/131/02 親株および E119V 変異株、B 型は B/Memphis/20/96 親株および R152K 変異株を用いた。

C. 研究結果

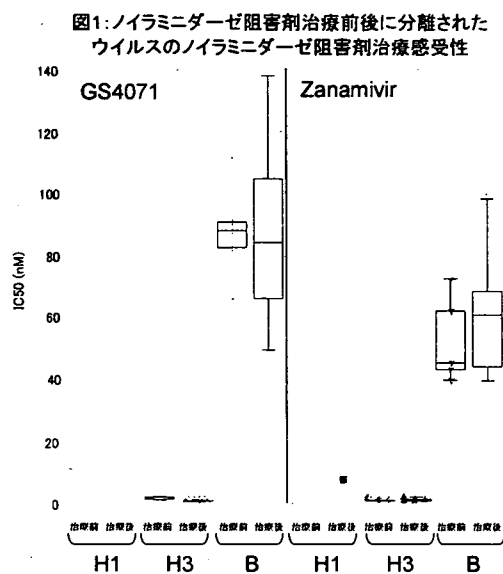
同一患者からのペア検体に関する解析：

福岡、群馬、長野の一般医療機関でインフルエンザと診断され、ノイラミニダーゼ阻害剤治療を受けた患者 11 人 (男 3 名、女 8 名) について、初診時および再診時に、鼻腔スワブを採取してウイルス分離に供した。初診から再診までの期間は、平均 2.9 日 (S. D. = 1.5 日) で、患者の年齢は最低 3.8 歳から最高 79.5 歳であった。分離されたウイルスの (亜)型は、A ソ連型 1 組、A 香港型 5 組、B 型 5 組の計 11 組 22 株であった。また対照群として抗インフルエンザ薬の投薬を受けていない 3 名の患者からも A ソ連型 1 組、A 香港型 1 組、B 型 1 組の計 3 組 6 株のウイルスが分離された。

これら 28 株のウイルスに関して、タミフル活性体 (GS4071) およびザナミビアのノイラミニダーゼ活性 50%阻害濃度を蛍光基質法で測定した (図 1)。

図に示されるように治療前と治療後に分離されたウイルスに対する 2 種類の抗ノイラミニダーゼ治療薬活性体のノイラミニダーゼ活性 50%阻害濃度に著明な変化は認められなかった。H3 亜型、B 型ウイ

ルスに関する t-検定においても治療後検体から分離されたウイルスの IC50 値の有意な上昇は認められなかった。対照群となる 3 名の患者から分離されたウイルスにおいても IC50 値の有意な上昇は認められなかった。これらの株についての NA 遺伝子の塩基配列を決定し、推定アミノ酸を比較したところ、既知の抗ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株に認められ

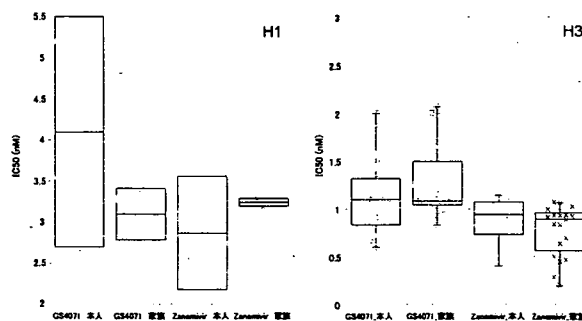


るアミノ酸置換は認められなかった。

家族間感染の疑われる例に関する解析：

京都の一般医療機関でインフルエンザと診断され、ノイラミニダーゼ阻害剤治療を受けた患者 20 名とノイラミニダーゼ阻害剤治療後に同一家族内でインフルエンザと診断された患者 22 名の初診時検体から計 42 株ウイルスを分離した。分離されたウイルスは A ソ連型 4 株、A 香港型 38 株であった。同一家族内での患者からは同一の亜型のウイルスが分離された。家族メンバーの初診日は初発患者初診日の平均

図2: 家族間感染が疑われた例から分離されたウイルスのノイラミニダーゼ阻害剤治療感受性



で2.9日(S. D. =1.9日)後であった。

家族間感染が疑われた症例から分離されたウイルスに関しても初発患者分離株と継発家族患者分離株の間で、2種類の抗ノイラミニダーゼ治療薬活性体のノイラミニダーゼ活性50%阻害濃度に著明な変化は認められなかった。A香港型分離株中、3株(初発由来2株、継発由来1株)が、Zanamivirに対するIC50の値が今回解析された株の中で外れ値を示した。しかし、これらの株のIC50値は、今回の解析の平均値(1.03nM; 外れ値となる3株をのぞく)からの変動の3倍以内の変化であることから、阻害剤に対する耐性を獲得したとは考えられない。継発例由来株NA遺伝子配列の解析からも、既知の耐性に関するアミノ酸置換は認められなかった。

D. 考察

今年度の検体からは一例も耐性獲得株は検出されなかった。一つの原因として、耐性株の出現頻度が低い為、今回のサンプル数では検出限界以下である可能性が考えられる。昨年度の解析で一例の耐性株を報告しているが、その際の出現頻度は1/48であった。また、治療開始から再診までの期間も耐性株の検出に影響を与えるかもしれない。今回の治療開始から再診までの期間は平均で、2.9日であり、体内で耐性株が選択されていたとしても完全に野生型と置き換わるには、十分な日数ではない可能性がある。このため、ウイルス分離の過程で野生株が優勢に分離される可能性は否定できない。治療による耐性株出現の頻度を精査するには、治療経過の長引いた患者からの検体をより多く解析することが必要かもしれない。

家族間感染が疑われた症例22例からも耐性株は分離されなかった。インフルエンザウイルスの潜伏期間が2-3日であり、継発例の受診までの日数が平均2.9日であることから、家族間感染においてす

で初発例の治療前に感染が成立していた可能性が考えられる。

E. 結論

今回収集されたウイルス(初診時分離株31株、治療後分離株11株および治療患者からの感染と考えられ患者からの分離株22株)のノイラミニダーゼ阻害剤感受性試験およびNA遺伝子の塩基配列解析の結果、耐性を獲得としたと思われるウイルスは一例も検出されなかった。

F. 健康危機情報

特記事項無し。

G. 研究発表

学会発表

Mutations in non-conserved residues outside the neuraminidase active site can confer resistance to the influenza neuraminidase inhibitors

J.L. McKimm-Breschkin, K. Jachno, T. Saito and M. Tashiro
Options for the control of influenza VI 2007年6月17-23日
トロント カナダ

分担研究報告書

「新型インフルエンザへの事前準備と大流行発生時の緊急対応計画に関する研究」

分担研究者 教授 押谷仁 東北大学医学系研究科 微生物学分野

協力研究者 鈴木陽、神垣太郎、齋藤麻理子、清水みどり、古瀬祐気、藤直子

東北大学医学系研究科 微生物学分野

研究要旨 研究1「インフルエンザパンデミックに対する非薬物的対策の評価」では、非薬物的対策がインフルエンザ対策として有効であるか、Pubmedを用いた literature reviewを行った。インフルエンザのウイルス学的検討として、研究2-1「インフルエンザウイルスの抗原性および薬剤耐性に関する検討—日本、フィリピンの比較」では、フィリピンと日本におけるインフルエンザウイルスの抗原性の変異および薬剤耐性との関連について考察した。研究2-2「小児のインフルエンザにおける呼吸器および消化器からのインフルエンザウイルスの排泄についての検討」として、小児のインフルエンザ様症状を呈した患者の咽頭および便よりインフルエンザウイルスの検出を試みた。

研究1「インフルエンザ大流行に対する非薬物的対策の評価」

【背景】

インフルエンザパンデミック対策としてワクチンが有効な対策だと考えられるが、パンデミックワクチンはパンデミックを引き起こした新型インフルエンザウイルスがどのようなものなのかが判明して初めてワクチンの開発・生産が可能になり、パンデミック初期には間に合わない可能性が高い。予め準備しておくプレパンデミックワクチンも、予想したウイルス株と抗原性が一致しない場合は、その交叉性に期待するしかない。また、抗インフルエンザ薬も治療薬や予防内服としての効果が期待されているが、パンデミックが発生した際にすべてのヒトに行き渡るほど十分な量が確保供給できるのかは疑問が残り、臨床的効果も確実に得られるとは言えない。現状において、我々はインフルエンザの大流行に対してワクチンや抗ウイルス剤を使用しない「非薬物的対策(non-pharmaceutical intervention)に頼らざるを得ない部分がある。しかし、こういった対策は広く推奨されているものの、その多くは科学的なエビデンスの明らかでないものが多い。そこでこの研究では、過去に発表されたさまざまな論文などの文献を検

索し、個々の非薬物的対策を評価するためのエビデンスの有無について調査した。

【対象と方法】

医学論文のデータベースである Pubmed にて、“influenza pandemic intervention(s)” “influenza non(-) pharmaceutical”, および“influenza mitigation” のキーワードを検索に用いた。

【結果および考察】

各キーワードによる検索では、“influenza pandemic intervention” 76 件、“influenza pandemic Interventions” 89 件、“influenza non-pharmaceutical” 5 件、“influenza non-pharmaceutical” 8 件、2influenza mitigation” 15 件の文献が該当した。これらの論文の内容を検討した結果、非薬物的対策として「旅行制限」「患者、暴露者の隔離」「学校閉鎖」「マスク」「咳エチケット」「手洗い」が主なものとして考えられたため、これらをキーワードとして再び検索を行った。内容を吟味

した結果、229 件の文献が今回の研究対象として採用された。

論文の分類

最終的に研究の対象となった文献をもとに非薬物的対策を分類すると「地域の閉鎖 (close area)」、「旅行制限 (travel restriction)」、「水際スクリーニング (screening at borders)」、「患者、暴露者の隔離 (isolation, quarantine)」、「社会的に接触を減らす (学校閉鎖以外) (social distance (expect for school closure))」、「学校閉鎖 (school closure)」、「マスク (mask)」、「咳エチケット (respiratory etiquette)」、「衛生対策 (手洗い以外) (hygiene (expect for hand washing))」、「手洗い (hand washing)」、「一般大衆への情報の普及、教育 (education and information for the public)」、「病院側の備え、対策 (preparedness and taking measures for flu in hospitals)」、「サーベイランス (surveillance)」、「ガイドラインの制定 (guideline)」、「国際的な協力 (international collaboration)」、「その他 (others)」に分けられた(表1)。

以下に個々の対策への評価について述べる。

国際的な対策

◆ 地域の閉鎖

この対策の有効性を示すような疫学的な文献は対象となったものの中にはなかった。過去のスペインインフルエンザ流行の際などには、離島など完全に外部との接触を絶つことができるような地域では、これによってインフルエンザの流行を防いだり[6,101]、あるいは流行の開始を遅らせたりすることのできた例[123]が知られている。一方、地域の閉鎖では流行の拡大を防ぐことはできなかったとする報告もある[6,103,104,124]。シミュレーションの結果では、早期に高い実行性をもって地域の閉鎖を行うことができれば、その効果は高いと算出されている[42,131]。

◆ 旅行の制限

エビデンス：この対策を実行した際の有効性を疫学的に示したものはなかった。数理モデルを用いた解析では、旅行制限のみでは流行の拡大を防ぐことはできないとするもの[3,21,24,38,62]、逆に罹患率をかなり低くすることができるもの[66,131]の両者がある。例え旅行の制限が有効であるとしても、現実問題としてその旅行制限の実施される期間にもよるであろうし、人々がどの程度遵守するのかも一つの要因であろう。あるシミュレーションによると99%以上の遵守率があれば効果があるとしており[23,41,44]、現実的には国境封鎖に近い対策を取らないとウイルスの流入の阻止はできないということになる。

専門家の意見：地域の閉鎖と同様に、法的・経済的・倫理的側面も含め、有効性も定かではなく実際に旅行を制限することは難しいと考えられる[2,5,21,23,67,69,86,135]。SARS 流行時、トロントへの旅行制限での経済的打撃はかなりのものであったと言われている[98]。ただ、患者が非流行地域に行くことを制限したり、個人個人の感染のリスクを低くするために流行地域への旅行を控えるよう勧告したりすることは可能であろう[39,67,119,159]。なお、現在までの H5N1 患者において旅行歴はリスクファクターとなっていない[208,213]が、途上国への旅行は一般の呼吸器感染症に罹患する危険があるとする論文もある[227]。

◆ 水際スクリーニング

エビデンス：この対策の有効性を示す疫学的解析は行われていない。数理モデルを用いた解析において、現行のスクリーニングでは83%以上の感染者を見落とすであろうと算出されている[126]。ほかのシミュレーションにおいても有効性は示されなかった[13]。また、SARS の世界的流行が2003年に起きた際にいくつかの国際空港で行われたスクリーニングも、結果として効果はなかったと考えられている[5,7,69,119]。費用や倫理面での問題も考えられる[132]。

専門家の意見：水際スクリーニングを推奨するような専門家の意見はほとんど見当たらなかった[2,5,13,67,69,135,160]。中には実行すべき手段の一つとして挙げているガイドラインもあった[112]。

そのほか：現在の体温スクリーニングに代わる新たなスクリーニング法も現在開発されており[99,152]、更なる検討の余地の残るところであるかもしれない。

国内での対策

◆ 患者、暴露者の隔離

エビデンス：疫学的に有効性を示すエビデンスはない。ある系統的レビューにおいていくつかの症例対象研究を解析した結果、ウイルスによる呼吸器感染を防げることが示されている（インフルエンザのみではない）[72]。スペインインフルエンザ流行の際にもこういった対策は取られたが、それによって流行の拡大は防げなかったとする報告が多い[6,73,98,118]。院内感染などが起きた時にも、よくこのような対策が取られているが[16,43,107,157]、対照がないためにその有効性は判断しがたい。シミュレーションでは効果があることを示したものもある[44,56,93,154]一方で、効果はないとするものもある[131]。また、病院内において患者の完璧な隔離やそれに加えて外部からの接触を絶つことができれば、院内での流行は抑えられるとするシミュレーションもある[20,56]。

専門家の意見：この対策を推奨する意見もあるが[34,111,113]、何人かの専門家たちは、大規模な流行には至っていないような状況[51]や、閉鎖された空間（軍の宿舎や船舶内など）[6,64,137,222]でのみ、このような手段を取るべきだと考えている。ただし、このような対策を行うに当たっては、その有効性の議論の他にいくつかの問題点がある。第一に倫理的な問題がある[5,19,69,108,119]。人の居場所を強制的に決めることは人権の侵害であると捉えられかねない。特にそれが、症状を呈している患者ではなく、一見健常である暴露者なら尚更であろう。また、暴露者の隔離を行うためには、患者の行動範囲を調べて接触者を割り出していくことになる。これは患者のみならず、その周囲の人間のプライバシーを侵害していることにもつながってしまう[145]。第二の問題は、隔離された人をどのようにケアしていくのか、ということである[69,86,98]。家から一步も外に出られなかつ

た場合、彼らに対する医療サービスはどのように行われるのか、また食糧や日用品はどのようにして支給、配給されるのかも考えなければならない。ほかにも経済的な問題が挙げられる[69,73,129]。隔離されている間は就業できないため、その間の給与が入らないことになってしまう。それに対する経済的な補償などを考えておかないと、市民の隔離に対する遵守率も低くなってしまふであろう[129]。スペインインフルエンザ流行の際のカナダではこういった隔離への反発はあったが、それほど大きくはなかった[73]。一方、SARS 流行の際、調査によるとその遵守率は56%程度であった[142]。多くの市民が隔離の指示に従うと答えたとする調査もある[82]。現実としては、法によって強制力を持たせることは難しく、自主的な隔離が勧告されるにとどまるのが妥当なのではないかと何人かの専門家たちは考えている[2,19,22,51,108,159,163]。

◆ 社会的に接触を減らす

エビデンス：有効性を示すような疫学的エビデンスはない。スペインインフルエンザ流行時にはこのような対策を長期に行うことで死亡率、罹患率を下げることもできたとする報告がある一方[9,59,102]、いくつかの都市ではこのような対策が取られたものの、流行の拡大を抑えるには至らなかったところもある[98]。こういった対策を取った結果、人と人との接触率をある程度減らせるとしてシミュレーションを行った研究もいくつかあり、その有効性が示唆されている[14,42,71,181]。

専門家の意見：この対策を推奨する専門家たちがいる一方、何人かの専門家たちは、人ごみになるべく行かないよう勧告することはできるものの、実際に強制力を持たせることは難しいのではないかと考えている[2,51,69,108,127]。また、集会などを制限しても多くの人が集まり密な接触を持つ場合はショッピングモールや電車の中などほかにもあり、その効果は薄いのではないかと考える者もいる[69]。職場を閉鎖する際には、先に述べたように経済的な補償が問題点として浮上してくるだろう。こういった勧告が発せられた時に、どの程度の人々が遵守してくれるのかといった事も問題の一つであるが、人々の遵守率が高くなるのは死亡率が高くなり危機

感が増してからだと、統計学的に示している文献もある[9]。ただ、実際にパンデミックが起きた際には自主的に集会などへの参加を控えることで自然とそのような集会が中止になる、といったこともありえるであろう[69]。

◆ 学校閉鎖

エビデンス：スペインインフルエンザ流行の際には学校閉鎖を行うことで流行を遅らせたという報告がされている[6]。しかし、学校閉鎖をした際に子供たちの接触率が減るという保証はなく、学校以外の場で子供たちが接触を持つことは想像に難くない[69]。上に述べた報告とは逆に、スペインインフルエンザの際、都市部の学校においては学校閉鎖を行った方が罹患率の高かった例もある[6]。学校閉鎖に対するシミュレーションの結果では、非常に効果のあるもの[15,50,106]・流行を遅らせたりピーク時の罹患率を下げたりする程度の効果はあるとするもの[41]・ほとんど効果はないとするもの[49,56,148]がある。学校閉鎖がどのタイミングでどの程度の期間行われるのかにもよるであろう。ただし非常に効果があるとするものでは、数ヶ月間という長期間の閉鎖を想定している[15,50]。

専門家の意見：この対策を行う問題点として、やはり経済的な問題が出てくる。学校が閉鎖された際に、特に子供が低学年である場合など、日中にその世話をする大人が必要になり、彼らの就業が制限されることになる。また低所得者の家庭では、学校給食によって子供の栄養状態を保つことができているような場合もあり、それがなくなってしまうのは重要な問題のひとつであろう[69]。学校閉鎖をするべきかどうかについては、専門家たちの意見もわかれるところである[2,135,144]。

個人での対策

◆ マスク

エビデンス：ある研究では呼吸器感染症に罹患した人とそうでない人を比較検討した結果、マスク着用の有無に差は見られなかった（インフルエンザのみではない）[1]。SARS 流行の際には、多くの人々がマスクをはじめとした個人的

な防御策を取っており、SARS をある程度防ぐ効果があったことがわかっている[83,155]。さらに、この期間中インフルエンザの罹患率が低かったことが示されているが[91]、この研究からはマスク単体でどの程度の効果があったのかはわからない（手洗いや咳エチケットといった対策も多くの人々がしているため）。また、スペインインフルエンザ流行時にはマスクの着用が声高に叫ばれたが、効果が十分に発揮されたとは言い難く、その必要性は一部の人の間では当時から疑問視されていた[73,96,98,119]。N95 マスクがサージカルマスクに比べて看護師を SARS から守ったことも示されている[92]。

専門家の意見：N95 マスクは高価であり数も十分に確保できるとは言えない。さらに、正しく着用しなければその効果は発揮されず、調査によると正しく着用できる人の割合は 24%程度であり[26]、その不適切な使用によって SARS の院内感染が広まった例もある[98]。専門家たちは、患者に密に接触する可能性のあるのや、エアロゾルが産生される様な作業に携わる医療従事者は N95 マスクを着用するよう推奨している[29,51,127,135,143]が、一般に向けて N95 の普及に努める必要はないかもしれない[72,151]。また、サージカルマスクについては全ての医療者と患者（他に感染を広げないように）が着用することを推奨しているが、一般大衆が着用することを勧めている意見はほとんどなかった[2,51,61,69,85,114,135,149,159,163]。

そのほか：マスクへの人々の理解（遵守率）は高いものの、マスクを着用するよう医療側が患者に伝えていない現状がある[17]。現在、ハイリスク者に対して用いるために酸素投与マスクと N95 マスクを組み合わせたものや[100]、ほかにもサージカルマスクの効能を高める新しいタイプのものなどが研究されてきている[87,122]。

◆ 咳エチケット

エビデンス：上述したように、SARS 流行の際、多くの人々が咳エチケットを含むさまざまな対策を取り、インフルエンザの検出率が低下したことが知られている[91]。

専門家の意見：多くの専門家やガイドラインにおいて、その実行が推奨されている[2,6,10,22,51,85,114,149,161,163]。

◆ 衛生対策

エビデンス：あるシステマティックレビューによると、無作為割り付け試験によって衛生対策が呼吸器感染症のリスクを減らすことが示されている[72]が、これはインフルエンザのみを対象としているわけではないので、インフルエンザ対策としてどの程度の効果があるのかはわからない。

専門家の意見：多くの専門家たちは、衛生対策を行うことを推奨している[10,51,61,119,137,159]。

◆ 手洗い

エビデンス：インフルエンザに関しては、症例対象研究において、手洗いによるリスクの軽減が確認されなかった[157]。一方、ほかの症例対象研究において手洗いが呼吸器感染症を防ぐと示されてもいる（インフルエンザのみではない）[1]。ほかにも手洗いによって呼吸器感染症の発症率を下げるのが無作為割り付け試験を含む疫学的研究で示されているが、インフルエンザに対してどの程度の効果があるのかは明らかでない[40,95,130]。上述したように、SARS 流行の際、多くの人々が手洗いを含むさまざまな対策を取り、インフルエンザの検出率が低下したことが知られている[91]。

専門家の意見：多くの専門家やガイドラインにおいて手洗いは推奨されている[2,10,22,51,61,64,67,105,114,137,149,159,160,162,163]。

そのほか：何を用いて手を洗うかは、通常の水や石鹸やアルコールで十分であり、抗菌石鹸などと言われるものが特に有効であるとは言えないことが実験的に示されている[72,78,95,125,158]。ほかにも新たな手洗い薬についての研究が行われている[76]。

ここから、始めに挙げたカテゴリーに分類される様な内容ではないものの、非薬物的対策につ

いて考えるときに重要となるであろう事柄について述べる。

◆ うがい

今回の研究では、うがいについて言及しているものは見当たらなかった。しかし日本では、風邪やインフルエンザの予防策として一般にうがいが推奨されている。よってこれに関する文献も検索した結果、以下のようにまとめられた。

背景：うがいは細胞に取り込まれる前の気道粘膜に付着したウイルスを洗い流すことを目的として行われる対策である。インフルエンザウイルスは接種後、5～6時間ほどで増殖し新たなウイルスが出現する(6)ため、これよりもさらに早い時期に感染（ウイルスの細胞への取り込み）は完了すると考えられる。よって、ウイルスに暴露されたあと細胞に取り込まれるまでの間にうがいを行うことは難しいかもしれない。うがいというのは上気道の一部である咽頭部を洗い流すものであるが、また、インフルエンザウイルスはそもそも気道や肺より鼻腔粘膜に対する感受性の方が高く(7-9)、最初の感染がここから起こるのなら、うがいでは洗い流せないことになる。また下気道に直接感染が起これば、インフルエンザが重症になるというフェレット(10)やサル(11)での報告もあり、このような下気道に対する感染に対してもうがいでは洗い流せないであろう。さらに現在問題となっている高病原性鳥インフルエンザに対するヒトのレセプターは下気道にのみ分布しており(12)（これによってヒト-ヒト感染が今のところ、効率よく起こらない（将来は、このウイルス側のレセプター結合部位が変わることで異なるレセプターに結合するようになり大流行が起こるかもしれない））、やはり現在の H5N1 に対してはうがいの効果はあまり期待できないと考えられる。

エビデンス：うがいによって、風邪や呼吸器感染症を防げるとした無作為割り付け試験による報告はあるが(13, 14,18)、インフルエンザのみを対象としてものではない。SARS 流行の際には、多変量解析の結果ではうがいの有効性は示せなかった(15)。

そのほか：何を用いてうがいをするかについては、PVP-I（イソジン）を用いるのが、呼吸器感染に対して効果的であるとする報告があり(14, 16)、またグルコン酸クロルヘキシジン液の有効性なども知られている(17)。一方で、単なる水によるうがいがPVP-Iによるものよりも、効果的であるとする報告もある(18)。紅茶(19)や緑茶(20)の成分を含むものでのうがいが、インフルエンザに対して有効であるとする報告もある。

【まとめ】

EBMにおいて、エビデンスとしてのレベルはシステマティックレビュー/メタアナリシス、無作為割り付け比較試験、分析疫学的研究、記述研究（ケースレポート）、専門家の意見、の順に低くなるとされている。今回調べられた論文の大多数は専門家の意見によって書かれたもの（expert opinion, non-systematic review(expert opinion)）であり、エビデンスとしてレベルが高いとされるシステマティックレビュー/メタアナリシス、無作為割り付け比較試験はほとんど見受けられなかった。その理由としてはインフルエンザの流行に際して、一般に行うことが推奨されているような非薬物的対策（手洗いなど）を行う群と行わない群に割り付けることが現実的に（倫理的にも）困難であると考えられる。一方、レベルは下がるものの、症例対照研究を行い、対照に比して症例が有意に行っていなかった対策があれば、それが有効性を示す疫学的なエビデンスとして考えることは可能である。

表1 非薬物的対策の具体的対応策の分類および掲載論文数

	systematic review	epidemiological study	case report	mathematical model	attitude survey	experimental study	way/technique	non-systematic review (expert opinion)	expert opinion	guideline	total
Close area			5	2				5		1	12
Travel restriction	1		3	13				8	4	3	28
Border screening	2		1	2			2	8	3	3	17
Isolation, quarantine	2	1	5	11	2			13	13	4	47
Social distance (expect for school closure)	2	3	1	11				10	5	3	30
School closure	1	2	1	10				12	2	4	27
Mask	2	5	2	2	6	2	3	12	8	4	39
Cough etiquette	1	1						4	7	1	13
Hygiene (expect for hand washing)	1		1					4	4	1	9
Hand washing	2	7	1	1	4		5	8	10	2	36
Education and information for the public	1		1		2			5	3	2	12
Preparedness and taking measures for flu of hospitals	1	1		1			1	9	12	3	25
Surveillance				3			5	6	7	4	21
Guideline					1			6	5	4	12
International collaboration				2	1			7	8	4	18
Others	1	2	2	5	3		3	14	21	7	49
Total	2	14	14	34	9	2	15	34	45	11	163

研究2. インフルエンザのウイルス学的検討

研究2-1「インフルエンザウイルスの抗原性および薬剤耐性に関する検討—日本、

フィリピンの比較」

【背景】

熱帯におけるインフルエンザは、温帯のようには明確なインフルエンザシーズンがなく、年間をとおしてインフルエンザウイルスが分離されるとされている。常にインフルエンザウイルスが分離されている地域での流行株の変異の時期やその過程は、温帯の国々にとってもワクチン選定において有益な情報となる。また、それらの地域で流行したインフルエンザが他の地域にどのように伝播していくかを観察することで、現在東南アジアで報告されているトリインフルエンザがヒト—ヒト感染を起こすようになった際のモデルになると考えられる。

日本をはじめとする国々で、アマンタジン耐性インフルエンザが分離株の多くを占める状況になっている。これは、A(H1)およびA(H3)のみならず、高病原性トリインフルエンザウイルスにおいても報告されている。東南アジアの国々では、本邦のように抗インフルエンザ薬の処方量が少なくウイルスが抗ウイルス薬に暴露する機会が少ないことより、薬剤耐性の頻度も非常に少ないことが予想される。このような地域での薬剤耐性をモニタリングすることにより、耐性株の出現の機序の手がかりが得られると考えられる。

今回は東南アジアのフィリピンと日本（仙台および福岡）におけるインフルエンザウイルス A (H3) の抗原性およびアマンタジン耐性能の有無について調査を行い、異なる地域におけるインフルエンザウイルス

の抗原決定部位および薬剤耐性遺伝子の変異について観察した。

【方法】

フィリピンにおけるインフルエンザサーベイランスにて採取された検体および仙台市内および福岡市内の開業医より提出された検体より、MDCK 細胞を用いたウイルス分離を行った。インフルエンザウイルス分離の確認は、赤血球凝集阻止試験を用いた。系統樹解析として、抗原性決定領域である HA1 部位のシーケンスを行った。アマンタジン耐性能については、M2 膜貫通領域のシーケンスにてスクリーニングを行い、TCID50 を用いた薬剤耐性試験にて確認した。

【結果】

2006 年 1 月から 2007 年 3 月までの間に、フィリピンでは 250 株の A 型インフルエンザウイルスが分離され、そのうち 86 株が A(H3)であった。インフルエンザウイルスは年間を通して分離されており、A(H3)のピークは 8 月から 9 月にかけて見られた。系統樹解析は、フィリピン北部 (Cordillera Autonomous Region)、ルソン島中央部 (National Capital Region および Pampanga)、南部 (Zamboanga) の合計 4 カ所の定点から分離された 46 株を用いた。一方、仙台および福岡の検体からは各々 223 および 117 株の A(H3)が分離され、そのうち 20%にあたる 67 株（仙台 44 株、福岡市内 23 株）を用いて、系統樹解析を行った。フィリピン分離株のみによる系統樹解析では、2006 年の分離株が中心になっているクレードと、2006 年後

半から2007年に分離された株が中心になっている2つのクレードが存在した。このクレードの分岐は、M2領域のアマンタジン耐性スクリーニングの結果と一致しており、後者のクレードはアマンタジン耐性株が7株(15.2%)であった。日本の分離株も二つのクレードを形成し、その分岐はアマンタジンの耐性と一致し、仙台では39株(88%)福岡では(54%)が耐性株であった。しかし、二つの地域のデータを合わせると、フィリピン分離株すべてが日本国内のアマンタジン耐性株と同じクレードに入った(図1)。

【考察】

インフルエンザ罹患者にアマンタジンが処方されることがほとんどないフィリピンにおいても、アマンタジン耐性ウイルスを確認したが、その頻度は日本国内のものより低かった。培養液中にアマンタジンを添加により耐性ウイルスが出現することより、抗ウイルス薬への暴露がある程度関与していると考えられるが、フィリピンのような国では説明がつかない。それぞれの地域で分離されたウイルスのみを対象に系統樹解析を行うとM2領域の変異と一致して耐性および感受性に分かれていたが、二つの地域のデータを合わせると日本国内の耐性ウイルスにまぎれるようにフィリピンの感受性ウイルスが入っていた。この現象は、一つの薬剤耐性ウイルスが世界各国に広まったのではなく、ウイルスが地域で伝播している間に耐性能を獲得したと考えられる。また、この結果は、HA遺伝子とM遺伝子が並行して変異していない事も示している。この変異が reassortment によるものかについては、他の分節遺伝子の塩基配列の確認が必要になっている。フィリピンで検出された薬剤耐性株は研究期間の終わりに収束しており、今後これらの薬剤耐性ウイルスがフィリピン国内でどのように広まっていったのか検討が必要である。

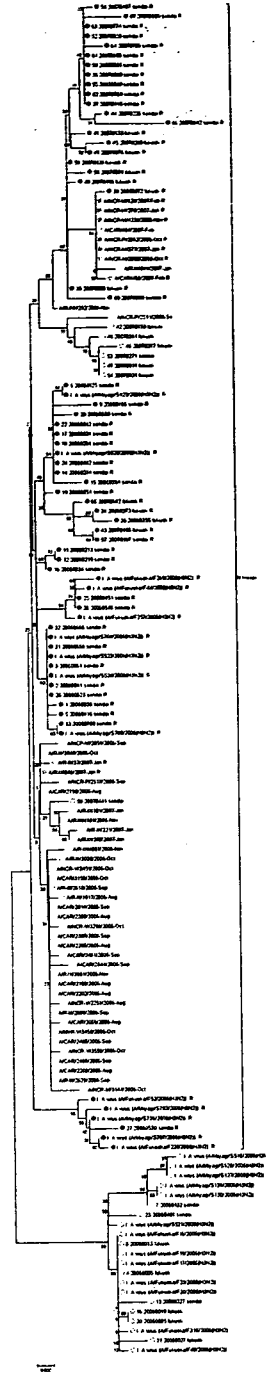


図1 インフルエンザウイルス A(H3)の HA1 領域 (901bp) による系統樹

緑○：フィリピン感受性株、緑●：フィリピン耐性株、青○：仙台感受性株、青●：仙台耐性株、赤○：福岡感受性株、赤●：福岡耐性株

2-2 「小児のインフルエンザにおける呼吸器および消化器からのインフルエンザウイルスの排泄についての検討」

【背景】

トリインフルエンザウイルス (H5N1) のヒト感染症例にのいて注目すべき点として、トリインフルエンザウイルスが罹患者の気道分泌物のみならず、便や血中からも分離・検出されたとする報告である。これは、ヒトが免疫を持っていない新型インフルエンザに罹患した際、患者の気道内分泌物以外に便からも感染しうることを示唆しており、ウイルス学、感染予防・防御および公衆衛生の観点においても非常に重要な発見である。一方 Wootton 等は、通常のヒトインフルエンザに罹患した小児の便中からインフルエンザウイルスを PCR にて検出している。小児の免疫能が十分に発達しておらず、ワクチンの効果も低く、インフルエンザウイルスへの免疫が未熟である点は、ヒトが新型インフルエンザウイルスに対して免疫がない点と類似しており、小児における便中へのウイルスの排泄は新型インフルエンザ感染のモデルに近いと考えられる。そこで我々は、インフルエンザに対して免疫を十分持っていないと予想される小児インフルエンザ患者の気道分泌物および便中から既存のインフルエンザウイルスを検出し、1) 検体中のウイルス量の経時的な変化、2) ウイルス抗原性とウイルスの排泄の関連について、3) 臨床像とウイルス排泄量などについて観察し、ヒトが新型インフルエンザウイルスに感染した際のウイルス排泄方法について類推できると考えている。

【研究方法】

2007-08 のインフルエンザウイルス流行時期に、仙台市内近郊の 17 の小児科開業施設にインフルエンザ様症状にて受診した小児を対象とした。保護者からの同意を得られた対象患者より、咽頭拭い液および便を採取し、MDCK 細胞によるウイルス分離を行った。インフルエンザウイルスの分離は赤血球凝集阻止試験にて確認した。対象患者より、性別、月齢、既往歴、インフルエンザワクチン接種歴、インフルエンザ発症日、医療機関受診日、検体採取日、臨床像、インフルエンザ迅速診断キット結果を収集した。

【結果】

仙台市内にてインフルエンザが流行した 2008 年 1 月からの 2 ヶ月間に、咽頭および鼻腔内ぬぐい液 409 検体、便 402 検体、合計 811 検体が提出された。咽頭および鼻腔内ぬぐい液より、インフルエンザウイルス A(H1)213 株、インフルエンザウイルス A(H3) 4 株、インフルエンザウイルス B(山形系) 8 株、インフルエンザウイルス C 型が 2 株分離され、便からは 22 株のインフルエンザウイルス A(H1) が分離された。

【考察】

インフルエンザ様症状を呈した小児の便よりインフルエンザウイルスが分離された。実験室内でのコンタミネーションを否定するため、保存検体からの再分離、real time PCR による検体中にウイルス量の定量を行う予定である。また、どのような要因が便中にウイルスを排泄するのか、患者情報と照らし合わせる予定である。

研究発表

1. 論文発表

【英文】

Oshitani H, Kamigaki T, Suzuki A. Influenza pandemic preparedness in developing countries: major issues and challenges. *Emerg Infect Dis* 2008, In press

【和文】

・押谷仁 【ウイルス感染症】 新型インフルエンザによるパンデミック. *分子呼吸器病*. 2007. 11:19-24

・押谷仁. 鳥インフルエンザ(H5N1)感染症の現状と今後. *日本内科学会雑誌*. 2007. 96:1987-1992

・押谷仁. 【インフルエンザを取り巻く治療・予防の現状と課題】 新型インフルエンザ出現の時期と出現後の対応(日本、海外). *Progress in Medicine*. 2007. 27:2307-2312

・押谷仁. 【難敵ウイルスを知る——感染拡大防止に備えて】 インフルエンザの治療と新型インフルエンザ対策. *月刊薬事*. 2007. 49:1191-1195

・押谷仁. 【新興・再興感染症の現状と予防】 高病原性トリインフルエンザと新型インフルエンザ. *保健の科学*. 2007. 49:669-673

・押谷仁. 話題のウイルス 鳥インフルエンザ. *Drug Delivery System*. 2007. 22:578

・押谷仁. グローバル化する新興感染症に対する危機管理体制. *岩手県立病院医学会雑誌*. 2007. 47:52-54

・押谷仁. 鳥インフルエンザと新型インフルエンザ. *Medical Technology*. 2007. 35:57-61

2. 学会発表

押谷仁, 第104回日本内科学会総会 教育講演「鳥インフルエンザ(H5N1)感染症の現状と今後」

押谷仁, 第55回日本化学療法学会総会 教育講演「日本の新型インフルエンザ対策の現状と課題」

3. 講演

・内閣府 気候変動シンポジウム 第1回 気候変動緩和策と適応策の最適化を考える? 総合的な温暖化対策への挑戦? 報告「気候変動の健康影響? 感染症と熱波の脅威と対処法?」

・平成19年度 日本医師会生涯教育講座(山形市、酒田市) 「新型インフルエンザ対策の現状と課題」

・第2回岩手県南感染制御ネットワーク本会 特別講演「新興ウイルス感染症にいかかに備えるか」

・第6回いわき救急医療研究会 「新型インフルエンザを含む感染症対策と救急医療」

・宮城県 市町村医療保険事業等担当課長会議 「新型インフルエンザ対策の現状と課題」

・宮崎県保健所 平成19年度保健所機能強化研修会 「新型インフルエンザの対策について」

- ・全国保健所長会 平成 19 年度 全国保健所長会研修会 新型インフルエンザ対策「日本の新型インフルエンザ対策の現状と課題」
- ・神戸検疫所 阪神地区感染症懇話会講演会「感染症危機管理のあり方と心構え」
- ・仙台市眼科医会 「鳥インフルエンザと新型インフルエンザ」現状と今後の課題について
- ・岩手県盛岡保健所 新型インフルエンザ発生時対応研修会「新型インフルエンザ対策とその課題」
- ・(財)国際保健医療交流センター「ワクチン予防可能疾患の疫学及び対策セミナー」
- ・茨城県 「新型インフルエンザ対策について」
- ・危機管理産業展 2007 スペシャル・カンファレンス危機管理セミナー「新型インフルエンザの基礎と予測される被害」
- ・岩手県盛岡保健所 新型インフルエンザ基調講演及びパンデミック時図上訓練シンポジウム
- ・李俊仁記念講演会(台北) “Global alert-Lessons from the outbreak of SARS”

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

新型インフルエンザへの事前準備と大流行発生時の緊急対応計画に関する研究
インフルエンザウイルス分離用宿主の検討に関する研究

分担研究者 滝澤剛則 富山県衛生研究所 部長

協力研究者 中村一哉、堀元栄詞、岩井雅恵、小原真弓、長谷川澄代、倉田 毅
富山県衛生研究所

研究要旨 MDCK 細胞と、ヒト大腸がん由来 Caco-2 細胞におけるインフルエンザウイルス (AH1、AH3) の感染様式を検討した。AH1 ウイルスは、MDCK 細胞に効率よく感染するのに対して、Caco-2 細胞には MDCK 細胞に比して 10 分の 1 程度の感染能を示した（平成 18 年度報告書）。一方、AH3 ウイルスは、Caco-2 細胞にも MDCK 細胞と同等以上に効率よく感染した。Caco-2 細胞は高度に分化するとドームを形成するが、AH1 ウイルスがドームにほとんど感染しなかったのに対して、AH3 ウイルスはドームにも効率よく感染した。レクチンによる α 2-3、 α 2-6 結合シアル酸の染色では、MDCK、Caco-2 細胞膜上のシアル酸の量に大きな差は認められず、特に、ドームは強く染色された。以上から、腸管由来 Caco-2 細胞で AH1、AH3 の感染効率が異なるのは、ウイルス側に要因があることが推定された。一方、ノイラミニダーゼ変異ウイルスを効率よく分離するために、ノイラミニダーゼを恒常的に、あるいは誘導可能な形で発現する MDCK 細胞の作製を試み、複数の細胞を得た。

A. 研究目的

変異あるいは新型インフルエンザウイルスを効率よく分離するためには、宿主細胞を複数揃えておく必要がある。一方、鳥インフルエンザウイルスが人に感染した事例では、下痢などの消化器症状が報告されている。そこで、インフルエンザウイルスの腸管での感染様式を推定するために、ヒト大腸がん由来 Caco-2 細胞でのインフルエンザウイルスの感染挙動を MDCK 細胞のそれと比較検討した。また、ノイラミニダーゼ (NA) 阻害剤を汎用することにより、NA 変異による阻害剤耐性ウイルスの出現が懸念されている。この

ような NA 変異を持つウイルスを効率よく分離する宿主として、NA を発現する宿主を用意することは意義のあることと考えられる。そこで、MDCK 細胞に NA を恒常的、あるいは誘導可能な形で発現することを試みた。

B. 研究方法

1) 細胞培養、およびウイルス

Caco-2 細胞は 37°C、5%炭酸ガス存在下に、GIT 培地で培養した。分化誘導する場合は、培地を交換しながら 3 週間程度培養を続けた。分化の程度は、ドームの形成を指標にした。MDCK 細胞は、