20093I020A

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

新型インフルエンザの発生予測、早期検知、リスク評価および大流行に対する事前準備と緊急対応に関する研究

平成21年度　総括・分担研究報告書

研究代表者　田代眞人
平成22年(2010)3月

目　次

平成21年度

I　総括研究報告書

新型インフルエンザの発生予測、早期検知、リスク評価および大流行に対する事前準備と緊急対応に関する研究　P. 1

研究代表者：田代眞人

II　分担研究報告書

1. 鳥インフルエンザの疫学と人への感染機構　P. 40

研究分担者：喜田宏

2. ウイルスの宿主域決定要因と人への馴化機構、ウイルス病原性の分子基盤の解明　P. 44

研究分担者：河岡義裕

3. 沖縄県における2009年度の新型インフルエンザ疫学調査　P. 46

研究分担者：岡部信彦

研究協力者：島田智恵、豊川貴生、砂川富正、谷口清州、古謝由紀子

医療および行政機関を対象とした新型インフルエンザを含む感染症全般に係る電話相談窓口

研究分担者：岡部信彦

研究協力者：山寺静子、小船富美夫、中山幹男、鈴木一義、萩原敏且、松本美弥子

4. インフルエンザワクチン有効性評価法の開発　P. 53

研究分担者：高橋宜聖

研究協力者：小野寺大志、阿戸　学、小林和夫、小田切孝人、田代眞人

5. 新型インフルエンザウイルスの感染予防法の開発　P. 57

研究分担者：長谷川秀樹

研究協力者：相内章、田村慎一、佐多徹太郎、田中伸哉

6. 海外における季節性インフルエンザウイルスにおけるノイラミニダーゼ耐性株出現頻度の解析と新規ザナミビル耐性株の発見　P. 64

分担研究者：西藤岳彦

協力研究者：内田裕子、齋藤玲子、鈴木宏

7. 新型インフルエンザ検査診断系の緊急構築とその改良に関する研究　P. 70

研究分担者：　小田切孝人

協力研究者：影山努、中内美名、岸田典子、白倉雅之、板村繁之、小渕正次、氏家誠

8. 薬剤耐性新型インフルエンザウイルスの調査および医療従事者コホートにおける新型インフルエンザ感染に関する研究　P. 133

研究分担者：押谷仁

協力研究者：島袋梢、小田切崇、貫和奈緒、古瀬祐気、鈴木陽

9. 鳥型からヒト型への変化に関する分子基盤および抗インフルエンザ創薬　P. 138

研究分担者：鈴木康夫

平成21年厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

新型インフルエンザの発生予測、早期検知、リスク評価および大流行に対する事前準備と緊急対応に関する研究

総括報告書

研究代表者　田代眞人　国立感染症研究所　インフルエンザウイルス研究センター長

研究要旨　2003年後半以来世界で拡大中のH5N1高病原性鳥インフルエンザは、既に鳥の間で定着してしまった。人の患者も490人、死亡260以上が確認され、致死率は60%を超える。鳥における流行は依然制圧される可能性は無く、何時でも新型インフルエンザが出現して大流行することが危惧されている。本研究は、地球レベルの視点に基づき、新型インフルエンザ大流行の際の健康被害を最小限にとどめ、社会機能の維持を目的として、①新型インフルエンザの出現予知と早期検知方法および流行動向監視方法の開発、②ウイルスの迅速性状解析に基づく大流行の可能性・被害予測のリスク評価法の確立、③緊急ワクチン開発・製造・供給及び効果・副作用の予測とモニター、④抗ウイルス剤の備蓄と使用方法及び効果・副作用・耐性ウイルスの予測とモニター、⑤感染病理機構の解明と治療方法の開発、などの時系列的な緊急対策・行動計画の策定とその実施に必要な理論的、技術的基盤と実用化応用の確立、を検討とした。

世界各地におけるトリでの流行状況、ヒト型への変化に必要な遺伝子変異、ヒト型に変化した場合の病原性の程度、これらに対する分子疫学情報とそのモニター方法を確立し、それらの情報によるリスク評価を行った。その結果、H5N1新型インフルエンザの出現の可能性が高いこと、また新型インフルエンザ(H1N1)2009の流行中にもH5N1の流行およびヒトへの感染は独立して拡大しており、危険性は変わっていないこと、さらに、新型H1N1pdmウイルスとトリH5N1との同時感染による遺伝子交雑が起こり、突然に強毒型インフルエンザが出現する危険性も指摘された。また、その際には、全身感染とサイトカインストームによる多臓器不全という、インフルエンザの概念を超える重症疾患の可能性が高いことが示された。その結果、過去に例を見ない多数の患者、死亡者が出て、医療サービスの崩壊などの健康危機が危惧される。さらに、2次的な交通・物流機構の麻痺による食糧やエネルギー供給、社会サービスなどが低下し、社会・経済機能や治安体制の破綻、更には地球レベルの危機が懸念されるので、これらの最悪の事態に備えた事前準備と緊急対応体制の整備が必要である。

一方、トリの間で流行中の弱毒型インフルエンザウイルスによる新型インフルエンザの可能性もあるが、健康被害、社会機能への影響などは、H5N1に比較すると軽度であると予想される。従って、この際の緊急対応については、健康被害を最小限にとどめることを目的として、病原性や予測される被害程度に応じて、必要十分な対応を行えるように、柔軟性をもった対応計画の整備が必要である。

本研究年度中の平成21年4月に、ブタインフルエンザ由来の新型インフルエンザ(H1N1)2009が発生した。殆ど予想されていなかったこのウイルスの出現については、十分な事前のリスク評価はなされていなかった。しかし、4月下旬に行われたウイルス遺伝子の全塩基配列および抗原解析結果の検討をもとに、これまで蓄積されてきた病原性規定遺伝子などの知見に基づいてリスク評価を行った。その結果、新型ウイルスは典型的な弱毒型ウイルスであり、病原性を規定する遺伝子は存在しない、抗原的にはブ

タ型ウイルスと一部共通する、未だヒト型には変化しておらず、ブタ型ウイルスの性状（すなわちトリ型ウイルスのかなりの性状）を維持している、ノイラミニダーゼ阻害薬が有効であることが確認された。さらにその所見などから、流行規模は従来の新型インフルエンザ程度にはなるが、大きな健康被害は起こらないこと、社会・経済的な影響も軽度であることが予測された。また、緊急対応としての新型ワクチンについても、適当なワクチン株の選択およびワクチン剤型の在り方を検討し、アジュバントを用いない季節性ワクチンと同じ剤型のワクチンで十分に免疫を誘導できること、新型 A(H1N1)pdm ウイルスと季節性 H1N1 ウイルスとの間の共通する抗原エピトープの解析から、多くの成人は新型ウイルスと交差する免疫記憶を持つこと、従って、ワクチンの一回接種でも十分な免疫応答が期待できることを予測した。一方、抗ウイルス剤については、アマンタジンには耐性を示すが、ノイラミニダーゼ阻害剤には感受性をもつことを予測した。

さらに、これらの予測について、ウイルス学的に実証作業を進めた。その結果、ウイルス遺伝子の全塩基配列の解析に基づき、これまでの分子疫学、分子ウイルス学の研究成果に基づいたリスク評価を行った結果は、実際のウイルスの性状と流行実態、およびワクチンや抗ウイルス薬の効果と、非常によく一致していたと評価される。

研究分担者
喜田　宏　北海道大学大学院
河岡義裕　東京大学医科学研究所
岡部信彦　国立感染症研究所感染症情報センター
高橋宜聖　国立感染症研究所免疫部
長谷川秀樹国立感染症研究所
　　　　　インフルエンザウイルス研究センター
小田切孝人国立感染症研究所
　　　　　インフルエンザウイルス研究センター
西藤岳彦　独立行政法人動物衛生研究所
押谷　仁　東北大学大学院
鈴木康夫　中部大学生命健康科学部

A. 研究目的

2003 年後半以来、世界各地に拡大した H5N1 型高病原性トリインフルエンザの流行では、480 名を超える感染患者が出ており、流行収束の見通しは無い。昨年度の研究によって、鳥ウイルスは様々な遺伝子変異を遂げて得おり、このまま経過すれば、人での新型インフルエンザ大流行の可能性は高いと判断され、その際には、全身感染とサイトカインストームによる多臓器不全という、インフルエンザの概念を超える重症疾患の可能性が高い。その結果、過去に例を見ない多数の患者、死亡者が出て、医療サービスの破綻などの健康危機や、交通・物流機構の麻痺による食糧やエネルギー供給、社会サービスなどの破綻による社会・経済機能や治安体制の崩壊などの危機が懸念されている。

新型インフルエンザ大流行のおける健康被害を最小限に留め、社会経済機能を維持することは、行政の大きな責任である。我が国でも、国内外の緊急事態に即応する新型インフルエンザ危機管理体制の早急な確立を進めている。しかし、新型インフルエンザ出現時期が予想不可能で、また予想される患者の病態、健康被害および社会的影響が不確定であるために、新型インフルエンザの危機に対する現実性が希薄で、関係者間での危機感の共有と政策実施の継続が困難となってきている。そこで、新型インフルエンザ出現の可能性、時期、被害等について、具体的な数値を挙げた説得力のある政策根拠の提出が求められ、それに応じた現実的な準備・対応が期待されている。

本研究の目的は、このような事態に対応して、新型インフルエンザ大流行に備えて、健康被害を最小限にとどめ、社会機能の維持を目的とした事前準備と緊急対策・行動計画の具体的な内容の策定とその実施に必要な理論的、技術的な基盤と実用化応用を確立することにある。さらに昨年度の研究実績に基づいて、東南アジア諸国が鳥に対するワクチン接種の導入を進めたために不顕性感染となっているが、その実態と危険性評価、H5N1

患者の報告数が減少している背景、H5N1 以外の亜型の可能性などにつても研究対象を拡大して行った。

一方、トリの間で流行中の弱毒型インフルエンザウイルスによる新型インフルエンザの可能性もあるが、健康被害、社会機能への影響などは、H5N1 に比較すると軽度であると予想される。従って、この際の緊急対応については、健康被害を最小限にとどめることを目的として、病原性や予測される被害程度に応じて、必要十分な対応を行えるように、柔軟性をもった対応計画の整備が必要である。このようなトリ弱毒型ウイルスに由来する新型インフルエンザの出現リスク、その場合の健康被害、社会的影響などについて、評価を行った。

本研究年度中の平成 21 年 4 月に、ブタインフルエンザ由来の新型インフルエンザ(H1N1)2009 が発生した。殆ど予想されていなかったこのウイルスの出現については、十分な事前のリスク評価はなされていなかった。しかし、4 月下旬に A/California/7/2010(H1N1)pdm について行われたウイルス遺伝子の全塩基配列および抗原解析結果の検討をもとに、これまで蓄積されてきた病原性規定遺伝子などの知見に基づいて、ウイルスの病原性、抗ウイルス剤の効果予測、ワクチンの効果予測、健康被害の程度、流行拡大の程度、社会的な影響等についてのリスク評価を行った。

さらに、これらの予測について、実際に流行したウイルス株、流行状況、健康被害等について、ウイルス学的に実証作業を進め、予測とリスク評価の妥当性を検討した。

B. 研究方法

①日本、モンゴル、ベトナム、香港において家禽と野鳥から採取した気管ぬぐい液および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、HA開裂部位のアミノ酸配列を解析した。

②2009年に分離されたH5N1鳥インフルエンザウイルスA/whooper swan/Mongolia/ 6/2009 (H5N1)および豚インフルエンザウイルス、豚由来パンデミックインフルエンザウイルスをブタに接種し、哺乳動物に対する感受性、病原性を比較した。

③鳥インフルエンザウイルスA/chicken/Yokohama/aq55/2001 (H9N2)のHA開裂部位に塩基性アミノ酸の連続配列を人工的に挿入し、さらにヒヨコの気嚢で継代した。この継代したウイルスの塩基配列を決定すると共に、ニワトリに対する病原性を静脈内接種および経鼻接種により評価した。

④2004 年にベトナムでヒトから分離された H5N1 インフルエンザウイルスを正常ヒト気管支上皮（NHBE）細胞で継代し、増殖性の変化について解析した。さらに、増殖性の向上に関与するアミノ酸変異を調べた。

⑤2009 年 8 月の調査については、沖縄県の関係者(県福祉保健部、同衛生環境研究所、同中央保健所・南部保健所・中部保健所)、那覇市立病院、県立南部医療センター・こども医療センター、県立中部病院を訪問し、サーベイランス情報、重症者・院内感染対策に関する情報を収集し、疫学的にまとめ、行政や医療体制への提言を行った。調査においては、広範な地域をカバーするために、テレコミュニケーション機器の使用が検討された。その後の同県宮古島市における調査では、沖縄県宮古福祉保健所で実施されてきた全数調査によって把握された症例数をもとに、県立宮古病院より得られる入院者の情報などとともに、発症率、入院率、重症化率などを推定した。医療機関未受診のインフルエンザ様症例の数を把握するために、宮古島市全域に職場が分布している市職員（約 1000 人）を対象に、流行期間中の症状や前年のワクチン接種などについて自記式の質問票調査を行った。

電話相談窓口は 2009 年 1 月より国立感染症研究所（戸山庁舎）の一室に開設され、年末年始および祝祭日を除く月曜日から金曜日の午前 9 時半より午後 5 時まで、担当者 1 日 1 名（週 5 名）で対応した。また、国立感染症研究所（以下感染研）感染症情報センターからは電話相談のサポート

として1日2名の研究職員が担当するとともに、季節性インフルエンザ、新型インフルエンザ、ワクチンなどそれぞれ専門別の担当者が決められ、協力体制が整えられた。また、インターネットによる相談は、感染研総務部の調整係（info@nih.go.jp）に送られたメールを電話相談の代表（山寺静子）が感染研の専用アドレスをもって対応した。相談者には応答の際にアンケート調査の協力を得て可能な限り年齢、職種（主婦を含む）、居住地の都道府県を聴取した。

相談の内容によっては関係部からの回答が適当とおもわれることがあるため、各部の業務（取り扱っている感染症および病原体）および担当者が記載された一覧表により適切と思われる部へ転送した。

⑥ワクチンに対する免疫反応の研究

(1) ヒト血清ならびに末梢血細胞の調製

新型インフルエンザウイルスに対する血清 HI 抗体価が 10 以下のボランティア（年令 21-55 才、男 / 女 = 2 / 1）からヘパリン含有末梢血を採取し、フィコール遠心分離により末梢血単核球を分離した。

(2) ELISA によるヘマグルチニン（HA）特異的抗体価の測定

バキュロウイルス発現系にて A/Narita/1/2009 の組換え HA タンパクを作製した。rHA タンパクを ELISA プレートにコーティングし、1% BSA でブロッキング後、段階希釈したヒト血清を加え、ペルオキシダーゼ標識した抗ヒト IgG 抗体で検出した。

(3)不活化ワクチンに対するドナー由来液性免疫応答の測定

ヒト末梢血細胞（5×10^7個）を NOD/SCID/Jak3$^{-/-}$ マウス尾静脈に移入後、不活化 A/Narita/1/2009 を接種した。10 日後に、尾静脈より採血し、血清中に含まれるヒト抗ヘマグルチニン IgG 抗体価を測定した。

⑦A/VN/1194/2004 (H5N1)、及び A/PR8(H1N1)を用いてマウス感染実験を行った。また交叉防御の実験では A/PR8(H1N1)のスプリットワクチンを用いた。H5N1 のワクチン株としてはリバースジェネティクス法により A/VN/1194/2004 (H5N1)の HA 遺伝子を弱毒型に改変し鳥由来のウイルスに導入した遺伝子組換えワクチン（NIBRG14）株のホルマリン不活化全粒子ワクチンを使用した。

A/VN/1194/2004(H5N1) 株及び A/PR8(H1N1)ウイルスを 1,000pfu を鼻腔内に接種した。感染実験は、全て国立感染症研究所 BSL2 及び BSL3 動物実験施設でおこなった。

アジュバントの調整

経鼻粘膜ワクチンのアジュバントとして以下 12 種のきのこの熱性抽出物を用いた。*Phellinus linteus*, *Cordyceps militaris*, *Lyophyllum decastes*, *Macrolepiota gracilenta*, *Naematoloma sublateritium*, *Agaricus blazei*, *Grifola frondosa*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceum*, *Inonotus obliquus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus nebrodensis* （応用きのこ研究所、山梨県韮崎市）陽性対照として合成二本鎖 RNA である poly(I:C)（東レ株式会社）をもちいた。

マウス免疫方法；免疫実験及び感染実験に用いたマウスは 6 週齢の BALB/c マウス(メス）を用いた。

6〜8 週齢の BALB/c マウス(雌)を用いた。1 群 5 匹のマウスにエーテル麻酔下で 0.1〜1 μg のワクチンを 10μg のきのこ熱性抽出物アジュバント、と共に経鼻投与した。4 週後に、初回免疫と同じ材料の追加免疫をおこない、その 2 週後に 5 匹/群から血清、鼻腔洗浄液、鼻腔関連リンパ組織(NALT)および脾臓を回収し抗体応答と抗体産生細胞数の測定をおこなった。すべての動物実験は国立感染症研究所の動物実験ガイドラインに従っておこなった。

ELISA アッセイ：遺伝子を改変した H5HA 及び H1HA に対する IgA および IgG 抗体価の測

定は、ELISA にておこなった。免疫に用いたワクチン抗原を ELISA プレートにコートし、血清サンプルまたは鼻腔洗浄液を加えて培養後、ビオチン化ヤギ抗マウス IgA（α鎖）または IgG（γ鎖）を反応させた。アルカリホスファターゼーストレプトアビジンを加えて培養した後、基質を加えて発色させ吸光度を測定した。あらかじめ精製した H5-HA, H1-HA 反応性の IgA と IgG を任意の単位(160U)のスタンダードとして用い、2段階希釈の標準曲線を作成して抗体価を表現した。

抗原特異的 T 細胞応答：ブースター免疫の 1 週間後に脾臓細胞を採取し単一細胞で浮遊培養する。脾臓細胞から磁気細胞ソーター(MACS: Militenyi Biotec, Bergisch, Germany)を用いて $CD11b^+$ (Mac-1), $CD45R^+$ (B220), $DX5^+$ and $Ter\text{-}119^+$ 細胞を除去し T 細胞を準備した。抗原提示細胞は脾臓細胞から CD90 (Thy1.2) $^+$ 細胞を除去した後 2000 cGy の放射線を照射して準備した。

脾臓細胞より得た T 細胞(1×10^5 cells/well) を放射線照射した抗原提示細胞(5×10^5 cells/well) を A/PR8 と共に培養し 4 日後の培養上清中のサイトカインを ELISA 法で interferon-γ を測定した。

骨髄由来樹状細胞：野生株マウスおよび MyD88 欠損マウスの大腿骨から骨髄由来樹状細胞を準備した。G-CSF と共に培養し 5 日目に Lipopolysaccharide (1 μg/ml), Zymosan (2μg/ml), *Phellinus linteus* (5μg/ml), *Macrolepiota gracilenta* (5μg/ml), *Lentinula edodes* (5μg/ml) or *Grifola frondosa* (5μg/ml) を添加し 6 日目に TNF-α を ELISA 法で測定した。

⑧海外の医療機関と協力しインフルエンザ検体を採取し、ウイルス培養株を用いてノイラミニダーゼ阻害剤耐性を検索した。

（1）海外(ミャンマー、ベトナム、レバノン、ロシア)の医療機関を受診したインフルエンザ様疾患患者から咽頭・鼻腔ぬぐい検体を採取した。

（2）MDCK 細胞を用いてウイルス培養を行った。

（3）分離されたウイルス株を HAI 試験にて型別同定を行った。

（4）分離株から、遺伝子シーケンスまたは、NA 遺伝子の特定の変異部位をターゲットとしたサイクリングプローブ法（H1N1-H274Y 変異）によりノイラミニダーゼ阻害剤変異を検出した。

（3）平行して、ノイラミニダーゼ阻害試験（IC50）によりオセルタミビル、ザナミビルに対する阻止濃度を測定し、薬剤耐性株を検出する。

（4）これまで報告のない NA 変異による薬剤耐性株を検出した場合 HA 遺伝子をはじめとして、アマンタジン耐性に寄与する M2 遺伝子等、他の遺伝子にも同時に変異がないか遺伝子特徴を確認した。

⑨4 月 24 日、米国カリフォルニア州の患者検体より分離された新型 A/H1N1pdm ウイルス(カリフォルニア株)の遺伝子配列が公開された。この配列を元にして、新型 A/H1N1pdm ウイルスのみを特異的に検出する検査系の構築に取り組んだ。H1 亜型のブタインフルエンザウイルスには、北米およびユーラシアの 2 系統の古典的ブタインフルエンザウイルスが知られている。また、鳥で循環している H1 亜型インフルエンザウイルスやヒトで流行している季節性の A/ソ連型(H1N1)ウイルスも存在し、H1 亜型は、ブタ北米系統、ブタユーラシア系統、鳥北米系統、ヒト季節性と大きく四つに分ける事ができる(図 1)。新型 A/H1N1pdm ウイルス(カリフォルニア株)は、HA 遺伝子の系統樹解析の結果ブタ北米系統に分類された。そこで季節性の A/ソ連型(H1N1)ウイルス、A/香港型(H3N2)には交差せず、北米系統のブタインフルエンザウイルスの HA 遺伝子のみをコンベンショナル RT-PCR 法もしくは TaqMan プローブを用いたリアルタイム RT-PCR 法により検出できるように、いくつかのプライマーおよびプローブの設計を行った。

⑩2009 年 8 月 1 日から 12 月 31 日までに、仙台市内の 2 つの小児科外来施設において、インフルエンザ様症状を呈し迅速診断キット陽性であった患者より検体を採取し、MDCK 細胞によるウイルス

分離を行った。細胞変性効果が確認され、赤血球凝集試験陽性であった培養上清からRNAを抽出し、complementary DNA を作成し、全 HA 遺伝子、NA 部分遺伝子を増幅し [5]、同部位の塩基配列を同定した。また、一部検体については、我々が考案したオセルタミビルの耐性遺伝子マーカーである H275Y を検出する Restriction Fragment Length Polymorphism（現在投稿中）をもちいた耐性株のスクリーニングを行った。また、同2施設において、タミフルもしくはザナミビル服用後患者より分離された 10 株について、前述の方法でのスクリーニングおよび、**Oseltamivir** および **Zanamivir** に対する薬剤感受性試験(IC50 測定)を行った。

⑪仙台市内の 18 の外来小児科医療施設に勤務している140名の医療従事者を対象としたコホート調査を、2009 年 10 月より開始した。咽頭拭い液を、医師から毎週、その他からは隔週で採取し、MDCK 細胞を用いたウイルス分離、PCR およびシークエンスによる A(H1N1)pdm 同定を行った。また、血清を医師から月二回、その他からは月一回で採取し、A(H1N1)pdm に対する抗体値を赤血球凝集阻止(HI)試験および中和試験(NT)にて確認した。更に、参加者全員に健康調査票を連日記載してもらい、インフルエンザ様症状等の症状の有無を確認した。

⑫合成シアロ糖鎖ポリマー、抗 H5 モノクローナル抗体およびイムノクロマト技術によるヒトおよび鳥インフルエンザウイルスレセプターシアロ糖鎖結合特異性監視法を様々な条件で構築した。*N*型-シアロ糖鎖の精密構造は、高速液体クロマトー質量分析により調べた。様々な天然、化学合成化合物につき、インフルエンザウイルス感染阻害、ヘマグルチニン、シアリダーゼ活性阻害評価を行った。

C. 結果

各分担研究の結果概要については、以下のとおりである。1．パンデミックの予知とリスク評価に関する研究

1) 喜田　宏

H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染被害はアジアからヨーロッパ、アフリカ諸国にまで拡大している。このウイルスによるヒトの感染・死亡例も報告されており、ヒトからヒトへの伝播能を獲得すれば、新型ウイルスとしてパンデミックを起こすことが危惧されている。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、ヒトの新型ウイルスの出現予測のためにも有益な情報が得られる。本研究は、鳥インフルエンザのグローバルサーベイランスを実施するとともに、鳥インフルエンザウイルスの哺乳動物への感染機構を明らかにすることを目的とする。2009 年は日本、モンゴル、ベトナム、香港において採取された家禽、渡りガモおよびハクチョウの材料 4,674 検体から合計 82 株のインフルエンザ A ウイルスを分離同定した。これらの分離株には高病原性の H5N1 鳥インフルエンザウイルスや低病原性の H5N1 ウイルスも含まれていた。これらの H5N1 ウイルスはブタに感染するが、増殖性は豚インフルエンザウイルスや豚由来パンデミックインフルエンザウイルスのそれよりも低かった。また、HA 開裂部位への塩基性アミノ酸の挿入とヒヨコを用いたウイルスの継代により、H9 亜型のウイルスも H5 や H7 亜型の高病原性株と同等のニワトリ静脈内接種病原性を獲得することがわかった。

2) 河岡義裕

H5N1 インフルエンザウイルスが、ヒトに直接感染するもののヒト間での流行が起きていないのは、感染・増殖する部位が主に肺の深部であり、鼻や咽頭などの上部気道で効率よく増えていないためと考えられる。そこで、ヒトに感染した H5N1 ウイルスが、更にどのような変異を獲得した場合、上部気道でよく増え、効率よくヒト間で伝播するように変化するのか調べるために、ヒト分離 H5N1 ウイルスを正常ヒト気管支細胞で継代したところ、継代ウイルスは様々な変異を獲得し、ヒト気管支細胞にて高い増殖性を示すようになった。更に、それらの継代ウイルスは、より上部

の気道細胞（鼻腔上皮細胞）においてもよく増えるように変化していた。どの変異が高い増殖性に関与しうるのか解析したところ、主にヘマグルチニン(HA)蛋白質のレセプター結合部位における変異が重要であることがわかった。

3) 長谷川秀樹

流行株の予測が不可能な新型インフルエンザの予防の為には交叉防御能のある粘膜免疫を誘導するワクチンの開発が必須である。本研究では新型インフルエンザウイルスの流行に備えて粘膜免疫誘導の為の安全なアジュバント開発を目的とした。免疫修飾物質として天然物由来のキノコ菌糸体抽出物のアジュバント作用について検討を行った。アジュバント作用が確認されたキノコ菌糸体抽出物について高病原性鳥インフルエンザウイルワクチンでワクチン株だけでなくclade の異なるウイルス感染に対し防御効果が示された。またそのアジュバント作用の分子メカニズムにアダプター分子 MyD88 が関与している事がしめされた。

4) 西藤岳彦

2005 年以降、世界的に薬剤耐性株の大流行がみられ、大きな問題となっている。
我々は、2007-2009 年に海外で採取された季節性インフルエンザ株を用いて薬剤耐性頻度を調査した。

1) 2007-08 年、ミャンマーで採取されたインフルエンザ A/H3N2 株 275 株中 2 株からザナミビルとアマンタジンの二重耐性株が見つかった。ザナミビル耐性に関連する NA 遺伝子に 136 位 Gln→Lys 変異をもち、IC50 値は感受性株の 30-60 倍に上昇していた。これは、世界で初のザナミビルとアマンタジンの二重耐性 H3N2 である。

2) 2008-09 年にレバノン、ヴェトナム、ロシア（ウラジオストク）においてノイラミニダーゼ阻害剤耐性頻度を調査したところ H1N1 は、71.8%がオセルタミビル耐性であったが、国により頻度に差がみられた。

5) 鈴木康夫

1)イムノクロマトを用いる簡便かつ高感度な鳥およびヒトインフルエンザウイルス（H5N1）レセプター認識特異性監視キットのプロトタイプ技術を構築した。2) 高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1) の宿主動物（ネコ、イヌなど）肺における *N*-結合型シアロ糖鎖レセプターの詳細な化学構造を明らかにした。3) ポビドンーヨード（PVP-I）の抗インフルエンザウイルス活性およびその阻害機構を調べ、PVP-I のウイルスヘマグルチニンおよびノイラミニダーゼ機能の抑制、感染性の阻害機構を明らかにした。4) 様々な化学合成シアロ糖鎖につき、抗インフルエンザウイルス活性を調べ、いくつかの新規ウイルスシアリダーゼ活性阻害剤を見出した。

2. 新型インフルエンザ(H1N1)2009 のリスク評価と対応に関する研究

各分担研究の結果概要については、以下のとおりである。

1) 小田切孝人

2009 年 4 月以降、ブタ由来の A/H1N1 インフルエンザウイルス(新型 A/H1N1pdm ウイルス)のヒトへの感染例が相次いで報告され、その後、世界中に拡大して世界規模の大流行(パンデミック)を引き起こした。

本研究では、新型 A/H1N1pdm ウイルスが本邦に上陸する前に、 PCR を用いた新型 A/H1N1pdm ウイルスの感染診断検査系を直ちに構築し、検疫所、地方衛生研究所においても新型 A/H1N1pdm ウイルスの感染診断が実施できる体制の構築を行った。その結果、新型 A/H1N1pdm ウイルスの国内流行状況をタイムリーに把握する事が可能となり、我が国の新型 A/H1N1pdm ウイルスによるパンデミック対策に大きく貢献する事ができた。また、今回構築した検出系は、WHO の PCR-WG とも共有し、国外の検査機関での診断検査系の開発にも役立てられた。

2) 押谷　仁

仙台市内で流行した新型インフルエンザウイルスおよびからオセルタミビル、ナザミビル投与後の患者から分離されたウイルスより両薬剤耐性ウイルスの検出を試みたが、NA 遺伝子の同定お

よび薬剤耐性試験において確認できず、耐性株の流行は確認できなかった。

仙台市内の小児科外来医療施設に勤務する 140 名の医療従事者を対象としたコホート研究にて、約 3 割が流行初期の段階で不顕性感染していると考えられた。

3) 岡部信彦

①本研究は2009年夏の沖縄県全域における新型インフルエンザ(H1N12009)流行下における実地疫学調査、および2010年1月現在進行中の沖縄県宮古島市におけるアンケート調査に基づく流行像把握調査、の二つからなる。沖縄県全域の調査からは、わが国における最初の第一波の概要が記述され、行政的な提言もなされた。同県宮古島市の調査からは、新型インフルエンザの疫学上のインパクトをより正確に測るための有用な傍証を得ることが期待される。

②医療及び行政機関を対象とした新型インフルエンザを含む感染症に対する相談窓口を2009年1月より国立感染症研究所(戸山庁舎)の一室で開設している。開設してからこれまでに(2010年2月末)、889件の電話相談があった(メールによる相談は除く)。そのうち、新型インフルエンザに関する相談は167件(18.8%)であった(相談内容からみた新型インフルエンザの比率は19%)。新型インフルエンザを含む全相談での相談者の職業をみると私企業がもっとも多く(25.5%)、次いで医療従事者(20.0%)、主婦(18.7%)、行政(10.3%)であった。電話相談で感じられることは感染症に対する幅広い知識が要求されることがわかった。また、新型インフルエンザに対する相談では、他のインフルエンザ相談窓口で満足できる回答が得られなかったという不満も一部寄せられた。

4) 高橋宜聖

2009 年新型インフルエンザウイルス (H1N1pdm) の大流行に伴い、スプリットワクチンの単回接種が実施された。その結果、H5N1 プレパンデミックワクチンの場合と異なり、血清学的にナイーブな健常人において H1N1pdm に対する中和抗体が効率的に誘導されることが確認され、何らかの交差免疫記憶の可能性が示唆されている。本研究では、ヒト免疫記憶応答を再構築したヒト化マウスを使用し、H1N1pdm に対する交差免疫応答を再現できるかどうか確認した。A/Narita/1/2009 株に対する血清 HI 抗体価陰性のドナー9 名から、末梢血リンパ球を調製しヒト化マウスを作製した。これらマウスに不活化 A/Narita/1/2009 株を接種したところ、ドナー9 名のうち、6 名由来のヒト化マウスにおいて抗体価の増加が認められ、A/Narita/1/2009 株に対する交差免疫応答の存在が確認された。今後、このヒト化マウスを用いることにより、交差免疫記憶応答に必要なリンパ球サブセットやその抗原認識部位を明らかにすることが可能となる。

D. 考察

[鳥インフルエンザ]

A 型インフルエンザは、カモなどの渡り鳥のウイルスをその起源とし、水鳥や家禽、ブタ、ウマ、ヒトなどを自然宿主とする人獣共通感染症である。A 型ウイルスには 16 種類の HA 亜型が存在するが、これら全ての亜型ウイルスは本来の宿主である水鳥の間で維持されている。自然界での鳥ウイルスはすべて弱毒型であり、鳥では腸管や呼吸器表層の局所的な不顕性感染にとどまる。

弱毒型鳥インフルエンザウイルスの中でも、H5 または H7 亜型ウイルスがニワトリの間で伝播流行すると、HA 蛋白の開裂部位の変異によって強毒型（高病原性）ウイルスに変化することがある。強毒型ウイルスは、家禽に対して強い感染伝播力を持ち、全身感染を起こしてほぼ 100%の家禽を殺す。これが高病原性鳥インフルエンザという鳥の病気であり、以前は家禽ペストと呼ばれた。「高病原性インフルエンザ」という呼称は、病原性が強い「インフルエンザ」との誤解を生じており、問題である。今回の研究結果から、従来弱毒型に終始すると考えられていた H9 についても、強毒型の出現の可能性が示唆された。さらに、15 年前から東アジアの家禽やブタの間で流行している H9N2 型は、既にレセプター結合特異性はヒト型となっており、ヒトの感染患者も毎年数人が確認されている。症状は全て季節性インフルエンザ程度

かより軽症である。しかし、中国南部では、H5N1型の制圧が進むにつれて、トリにおける弱毒型H9N2 ウイルスの流行が相対的に増加している。従って、新型インフルエンザが発生する可能性も以前から指摘されているが、さらにその場合には強毒型である可能性も否定できなくなった。

鳥ウイルスが直接にヒトに感染することは稀だが、様々な遺伝子変異によって、直接的またはブタを介してヒト型ウイルスに変化し、数十年に一回の割合で、ヒトの世界で新型インフルエンザとして大流行を繰り返してきた。現在トリの間で流行しているウイルスが、そのまま新型インフルエンザとしてヒトの間で大流行する可能性はない（添付図 12)。

今回のブタ由来の H1N1 新型インフルエンザを含めて、過去の新型インフルエンザは鳥の弱毒型ウイルスに由来していたので、ヒトにおいても「インフルエンザ」と言う呼吸器に限局した感染症を起こしてきた。毎年流行するヒトの季節性インフルエンザは、このような新型インフルエンザの子孫ウイルスによって起こる呼吸器感染症である。

現在、東アジアを中心にトリの間で流行しているウイルスでは、強毒型 H5N1, 弱毒型 H9N2 が双璧であり、これらから新型インフルエンザが発生する危険性が高い。それ以外では、2004 にオランダを中心に流行した強毒型 H7 の流行が懸念され、また中国では弱毒型 H6N1 も相対的に優位にある。

一方、現在特に問題となる流行はないが、1957に新型インフルエンザとして 2～400 万人の死亡者を出したと推定され、その後 1968 年までヒトの世界で流行した弱毒型 H2N2 については、ウイルスが多くの研究室に凍結保存され、実験にも使用されている。このウイルス自身は弱毒型であるが、ヒト患者から分離された完全なヒト型ウイルスであり、病原性は H3N2 香港型よりも若干強い。しかも 1968 年以後に生まれたヒトは全く免疫を持たない。従って、実験室などでの感染事故等により感染者が発生すれば、43 歳以下を中心に大流行を起こす可能性がある。

今回の新型インフルエンザ (H1N1) 2009 の流行中でも、トリの間で定着しているトリ強毒型 H5N1 の流行はほぼ例年通りであり、偶発的なヒトの患者の発生状況も変わっていない。従って、現時点での新型インフルエンザに対するリスク評価は、数年前とは大きく変わっていない（添付図 1)。

[ブタインフルエンザ]

ブタは、呼吸器細胞がトリ型とヒト型の両方のレセプターを持ち、また体温がトリとヒトの中間にあるため、鳥とヒトの両方のウイルス感染を受けることができる。そこで、これらに起源をもつブタ型ウイルス(トリ型とヒト型の中間に位置する)を維持している。畜産ブタの寿命は半年程度なので、ヒトとは異なって、免疫圧力による抗原変異ウイルスの選択が起こりにくく、北米では1918 年のスペインかぜインフルエンザの子孫ウイルス(H1N1) がブタの中で維持されている。さらに、鳥やブタのウイルスとヒトのウイルスが同時に感染すると、遺伝子分節の交雑が起こるために、ヒトの新型インフルエンザ出現過程で中間宿主の役割を果たしてきた。

2009 年の新型インフルエンザウイルス (H1N1)pdm は、北米系統のブタインフルエンザウイルス（正確には、1990 年代の後半に、古典的ブタ型ウイルスと、ヒト香港型ウイルスとトリ型ウイルスから RNA ポリメラーゼ遺伝子が導入された 3 重交雑体）に、ユーラシア系統のブタウイルスの NA と M 遺伝子が交雑した結果、ヒトの間での感染伝播力を獲得したものである。

ウイルス遺伝子の全塩基配列から予想される内部タンパクのアミノ酸残基を、ヒト型ウイルスに共通するアミノ酸、トリ型ウイルスに共通するアミノ酸と比較すると、ヒト型とトリ型のちょうど中間に位置した。PA タンパクの 356 のアミノ酸置換が唯一の共通する変化であり、未だヒト型にはなっていないことが示された（添付図 2)。

ほぼ完全なブタ型ウイルスであり、アミノ酸配列から予想される HA タンパクのレセプター結合部位の構造からは、ブタ型ウイルスと同じく、ト

リ型とヒト型の両方のレセプターに結合する能力を持つと判断された。

遺伝子はすべて弱毒型ウイルスに由来しており、スペインかぜウイルスや強毒型 H5N1 ウイルスに認められる強毒性を規定する遺伝子は見つかっていない。一方、全身感染（強毒型）か局所感染（弱毒型）かを規定する HA タンパクのプロテアーゼによる解裂活性化部位は一つのアルギニン残基しか持たず、全身感染は起こさない（添付図 3)。

RNA ポリメラーゼの至適温度を決める PB1 については、これを規定する 627 および 701 番目のアミノ酸はそれぞれトリ型であり、未だヒト型には適応しておらず、ヒトにおけるウイルス増殖や伝播力はまだ十分ではないと判断された（添付図 4)。

スペインかぜウイルスと H5N1 ウイルスで合成されている PB1－F2 タンパクについては、3 か所のストップコドンのためにタンパク合成はなく、これが規定する細胞・組織障害性はないと判断された（添付図 5)。

H5N1 ウイルスの強毒性に関与する NA タンパクの軸部位にはアミノ酸欠損はなかった。

NSI タンパクについては、スペインかぜウイルスや H5N1 ウイルスとは異なって、92 番目のアミノ酸は季節性ウイルスと同じであり、C 末端の PDZ モチーフはコードされていない。従って、これらが規定するアポトーシス誘導、インターフェロン抵抗性、組織障害等の病原性を規定するシグナルは存在しない（添付図 6)。

一方、動物実験では、季節性インフルエンザに比べて肺炎を起こす傾向が示され、若干病原性が高かった。これは、A(H1N1)pdm ウイルスが、肺胞上皮細胞に存在するトリ型レセプターに結合しうることと、小動物の肺の体温が高いために、増殖至適温度に近いことが理由と解釈される（添付図 7)。

また、感染したヒトからネコ、ブタ、イヌ、フェレット、ニワトリ、シチメンチョウなどにも感染伝播されていることから、これらの動物の間でウイルスが維持されると、さらにヒトへの感染源になったり、H5N1 等のトリ型ウイルスとの遺伝子交雑が生じることが危惧される（添付図 8)。

一方、A(H1N1)pdm ウイルスの抗原性は均一で、最近の季節性 H1N1 ウイルスと全く交差しないが、過去のブタ型ウイルスとはかなり高い交差性を示す（添付図 9)。

しかし、遺伝子塩基配列から推定される抗原エピトープについては、ブタ型ウイルスとヒト季節性ウイルスの中間にあり、HA で約 30～50%が保存されている（添付図 10)。従って、季節性 H1N1 ウイルスの感染暴露を受けている殆どの成人については、共通抗原エピトープに対する基礎免疫記憶(プライミング）を持つと推定された（添付図 11)。

70 歳以上の高齢者の多くが A(H1N1) pdm ウイルスに対する中和抗体を保有している知見と合わせて考えると、高齢者を含む多くの成人では流行がそれほど広がらない可能性、またワクチンの 1 回接種で共通免疫の増強（ブースター効果）が期待できることが推定された。

従って、2009 年の H1N1 パンデミックは、ウイルス学的には弱毒型の季節性インフルエンザウイルスに相当するブタウイルス由来の新型ウイルスによるもので、病気は呼吸器感染に留まる「インフルエンザ」である。健康被害も最悪でも、世界全体で 200～400 万人が死亡したアジアかぜインフルエンザや、100 万人程度が死亡した香港かぜインフルエンザ並みの中程度の健康被害であり、健康被害も比較的軽度で、社会的影響も壊滅的なレベルには至らないと予想された。

また、スペインかぜパンデミックでは、第 1 波は弱毒性であったが、第 2 波では病原性が増強されて大きな健康被害が出たと言われている。しかし、ウイルス遺伝子が解析されたのは第 2 波のウイルスのみであり、推定の域を出ない。現在の A(H1N1) pdm ウイルスにスペインかぜウイルスにおける病原性を規定する幾つかの遺伝子変異が同時に起こる可能性は非常に低い。従って、可能性は全く否定はできないが、このウイルスが近い将来、病原性を高める可能性は非常に低いと予想

された。一方、今後起こるだろうヒト型への適応につれて、より季節性ウイルスを同じ流行動向と病原性を示すようになる可能性が高い。

ほとんどの人が免疫を持たないために新型インフルエンザ(H1N1)2009 は世界的流行を起こしたが、伝播効率や健康被害が季節性インフルエンザを越えていない事実は、これらのウイルス学的解析から予想されたことと、よく一致している。

[高病原性H５N１鳥インフルエンザの流行と強毒型パンデミック出現への危惧]

2003 年後半に東アジアから始まった H5N1 高病原性鳥インフルエンザの流行は、中国、韓国、日本、東南アジア、シベリア、インド、中東、ヨーロッパ、アフリカへと拡大を続けている。このウイルスは特に病原性が強く、家禽以外にも多くの野鳥やネコ、トラ、ネズミ、イヌなどの哺乳動物にも致死的な全身感染を起こす。流行拡大につれてウイルス遺伝子に突然変異が次々と生じる結果、同じ H5N1 亜型でも流行地域ごとに抗原性や生物学的性状が異なる 10 のクレードに大きく分かれ、更にその中でもいくつかのサブクレードに分岐して、新型インフルエンザ(H1N1)2009 の大流行中にも、これとは独立に世界各地の様々な鳥類の間で流行中である（添付図 14)。

トリ H5N1 ウイルスがヒトに感染することは稀だが、既に 500 人近くの感染患者が確認されている。その多くは鳥との接触感染で、小児・若年成人が 90%を占め、不顕性感染は殆どない。主な伝播経路は飛沫感染だが、経口感染も疑われている。ほとんどの症例は重症肺炎(ARDS)が主徴であるが、さらに下痢、多臓器不全、出血傾向などを呈し、病態は基本的には動物や鳥と同様である。ウイルス感染は呼吸器にとどまらず、血流中に入って脳、心臓、腎臓、脾臓、リンパ節、腸管や、胎盤、胎児にも感染が拡がる。ウイルスがヒト型に変化した場合には、更に広範な全身感染が起こることが危惧される。一方、ウイルス感染に対する宿主側の過剰防御応答（サイトカインストーム）により多臓器不全が生じ、致死率は 60%を超え、無治療の場合には 100%死亡している。H5N1 強毒型鳥インフルエンザウイルスのヒトでの感染は、呼吸器の局所感染である「インフルエンザ」とは異なる、非常に重症な全身性疾患であることを銘記すべきである。

さらに、トリ型からヒト型への変化に必要とする遺伝子変異の部位と、強毒性を規定する遺伝子部位は、別の遺伝子分節または別の遺伝子部位に存在するために、トリ型の H5N1 ウイルスがヒト型になった場合に弱毒型になる可能性はない（添付図 12)。

従って、H5N1 による新型インフルエンザ大流行は、強毒型のパンデミックという最悪のシナリオとなろう。

弱毒型ウイルスで比較的病原性の弱い A(H1N1) pdm による新型インフルエンザ大流行に対して、H5N1 鳥ウイルス由来の新型インフルエンザが出現すれば、強い病原性のウイルスによる大流行が起こり、過去のパンデミックとは比較にならない甚大な健康被害と社会的影響という最悪のシナリオとなる可能性が高い。この際には、世界で 1 億人以上、日本でも 64～210 万人が死亡するとの予測もある。ヒト型への変化に伴ってウイルスが弱毒化するとの予想には根拠は無く、むしろ更に強い全身感染を起こす可能性も危惧され、過去の新型インフルエンザとは比較にならない甚大な健康被害と社会的影響が起こる可能性がある（添付図 15)。

現時点で、強毒型の新型ウイルスが出現すれば、短期間に集中的な大流行が起こり、膨大な健康被害と二次的な社会機能、経済活動の破綻・崩壊が危惧される。特に、医療サービス、交通・物流、食糧やエネルギーなどのライフライン、治安維持などの社会機能の維持が問題となる。さらに、行政機関、企業、事業体等においても、業務の低下、停止から破綻に至る可能性もある。世界全体で大量倒産や GDP の～10%減など、1929 年の世界大恐慌をはるかに上回る経済破綻も予測されている。途上国などにおいて、パンデミックへの準備と緊急対応体制が無い場合には、さらに膨大な健康被

害と社会的な影響が出るであろう。

現時点で、H5N1 ウイルスは依然トリ型であるが、鳥との接触歴がなく、人から人への感染伝播が推定される集団発生例も多数報告されている。インフルエンザウイルスの遺伝子変異はウイルス複製回数に比例するので、鳥での伝播が拡大継続する限り、ヒト型に変身する危険が増え続ける。

2006 年をピークとして H5N1 患者報告数は減少傾向にあるが、2009 年には患者発生は前年を越え、消滅するとの一部の予測は全く外れた。インドネシアでの患者発生は年末まで公開されず、この間の患者発生やウイルスの解析結果に対する緊急対応は全くなされなかった。

さらに、鳥インフルエンザ流行地域の多くでは鳥にワクチン接種の導入を行ったため、鳥は不顕性感染となり、病鳥が発見されにくくなって、かえって新型インフルエンザ出現の危険性が高まったとも考えられる。

一方、エジプトでは多数の患者が報告されたが、その多くは小児であり、しかも小児における致死率は 12%と低かった。これに対して成人女性の致死率は高かった。小児に患者が多かったことに対する理由については十分に説得力のある回答はないが、小児が家禽との接触する機会が多いと考えられている。一方、致死率の違いは、医療へのアクセスの違いによるものと推察される。エジプトでは、インフルエンザ様症状を呈した小児に対しては、検査結果を待たずに抗インフルエンザ薬の治療を受けることになっているが、成人特に女性では医療機関を受診することは稀であると報告されている。

エジプトのおける流行ウイルスはクレード 2.2 系統であり、これまでの同系統のウイルスとは優位の変化は起こっていない。従って、致死率の低下は、ウイルスが弱毒化したものではなく、早期治療による効果であると考えられる。インドネシアでは、治療しなかった場合の致死率が 100%であることを考慮すると、早期治療が重要であり、疑い患者が発生した際には、直ちに治療を開始できるような教育、情報提供、受け入れ態勢の整備が必要である。

一方で、東アジアを中心に弱毒型 H9N2 鳥インフルエンザが拡大傾向にあることが分かり、H5 以外の亜型についても新型インフルエンザとなる可能性も指摘される。しかも、H9N2 ウイルスは 10 年以上前から、レセプター結合特性が、ガラクトースと α(2-6) で結合したシアル酸(ヒト型)に変化していることから、新型インフルエンザとなる可能性も比較的高い。しかし、ウイルスは典型的な弱毒型であり、壊滅的な状況にはならないと考えられる。

4 月以来、現在流行中の 2009 年の H1N1 パンデミックは、弱毒型の季節性インフルエンザウイルスに相当するブタウイルス由来の新型ウイルスによるもので、病気は「インフルエンザ」である。健康被害も世界全体で 200～400 万人が死亡したアジアかぜインフルエンザや、100 万人程度が死亡した香港かぜインフルエンザ並みの中程度の健康被害であると予想される。このような弱毒型鳥ウイルスに由来する新型インフルエンザの場合には、人の病気は「インフルエンザ」であり、健康被害も比較的軽度で、社会的影響も壊滅的なレベルには至らないと予想される。

それでも 1918 年のスペインカゼでは、当時の世界人口 18 億人のうち、若年成人を中心に 4 千万から 1 億人が死亡したと推定されている。現在地球人口は 68 億人に増加し、高速大量輸送などで生活環境は大きく変化しているので、同程度の病原性を持つパンデミックでも、その被害はさらに大きくなると予想される。国は、スペインかぜインフルエンザを最悪のシナリオと想定し、国内での死亡を最大 64 万人として、これに対する対策を検討してきた。これに対しては、非常に楽観的な想定であり、十分な準備にはなっていないとの批判も多い。

現在のブタ由来 H1N1 新型インフルエンザの大流行とは独立して、H5N1 強毒型ウイルスは鳥の間で流行を続けており、ヒトへの感染例も昨年の報告数を越えている。既にヒト型化に対応する遺伝子変異をもつウイルスも、少なからず確認されて

おり、徐々にヒト型に近づいていると懸念されている。従って、H5N1 強毒型の新型インフルエンザ出現のリスクは全く減っていないことを強調しておきたい（添付図 13, 16, 17）。

[新型インフルエンザ大流行への準備]

新型インフルエンザ対策は、健康問題を超えて、社会全体での危機管理、危機対応の問題である。危機管理上の準備対策としては、最悪のシナリオを想定し、これに対して十分な準備をしておくことが鉄則である。現時点での最悪のシナリオは、強毒型 H5N1 パンデミックである。これに対する事前準備と緊急対応計画を実施しておけば、弱毒性のパンデミックの場合にも、余裕を持って柔軟に対応が可能となる。

しかし、今回のブタ由来の弱毒性 H1N1 新型インフルエンザに対しては、当初、政府によって、「最悪」を想定した計画に沿って硬直化した対応が執られたために、様々な社会的な影響が出て大きな批判を浴びた。しかも、その反動で、季節性インフルエンザ程度との誤った安心感が広がり、新型インフルエンザの本質が見失われた結果、必要な措置が次々と骨抜きとなる一方で、適切な緊急対応が遅れて、貴重な時間が浪費されてしまった。秋口になって本格的に流行が広がり始めてから、ようやくワクチン政策や医療体制の整備など、多くの未解決な問題が浮き彫りにされてきた。

新型インフルエンザ大流行には地球全体での対応が必要であり、国連、WHO をはじめ各国は新型インフルエンザを危機管理問題として準備を進めている。我が国でも、平成 17 年末に新型インフルエンザ対策行動計画を定め、平成 21 年 3 月には新型インフルエンザ対策ガイドラインを改定し、省庁連携体制で事前準備と大流行時の緊急対応計画の策定と実施を進めてきた。これらは、強毒型パンデミックを想定していると説明されているが、被害想定は弱毒型のスペインかぜを対象としたものであり、H5N1 パンデミックを想定した十分な準備対応は計画されていない。しかも、弱毒性の比較的軽微なパンデミックに対する対応については、柔軟性・弾力性をもった計画の修正・変更が検討されていなかったために、今回の H1N1 パンデミックに際しては、新たな基本方針などが次々と出されて、実施担当の前線において様々な混乱が生じた。

[強毒型パンデミックに対する事前準備と緊急対応計画]

一応 H5N1 パンデミックを想定した国の計画では、新型インフルエンザ早期検知の監視体制、検疫や早期封じ込め戦略、流行を平坦化して患者の集中的発生を抑え社会機能の維持を図る社会行動規制、新型ワクチン開発とプレパンデミックワクチンの備蓄、パンデミックワクチンの緊急開発・製造・接種、抗ウイルス剤の備蓄と使用方針、医療体制の確保、学校や事業所での緊急対応や業務継続計画、海外在留者への対応措置など、多くの項目について計画が立てられている。一部は実施されているがまだまだ不十分である。特に、これらの事前準備と緊急対応のほとんどを実施する主体は地方自治体であるが、各自治体における危機感の認識と準備対応には大きな差異があり、国による十分な指導・支援が望まれる。

何時、どの亜型で、どの程度の病原性のウイルスかは予想不可能だが、新型インフルエンザ大流行は何時か必ず起こる。ブタ由来の H1N1 パンデミックの現時点においても、H5 亜型の可能性は依然高く、十分な事前準備がなければ健康被害は膨大となり、二次的な社会危機が生じてパニックが起こる可能性は変わっていない。

しかし行政だけでは国民全ての健康を確保し、社会機能を維持することは不可能である。国民は新型インフルエンザに対する正しい知識を持ち、起こりうる状況を理解して、冷静かつ適切に対応しうる準備が必要となる。健康被害を最小限にとどめ、社会機能を維持するために、各自治体、企業、事業所、職場、家庭、個人でも、各状況に応じた効果的な対策を準備する必要がある。大流行時には多数の職員の欠勤が予想されるので、職員の確保や優先順位の設定などによる緊急対応体

制の維持が必要である。予め事前準備計画を立てて実施しておくこと、また大流行発生時における緊急対応計画を作成して実施可能にしておくことが強く望まれる。

また新型インフルエンザ発生直後には、基本的には患者は指定医療機関への入院勧告がなされ、封じ込めにより流行を遅らせて平坦化する措置が取られる。しかし、流行の拡大後には隔離政策は意味を失い、すべての医療機関が対応することとなる。発熱外来の設置や、電話やメールによる遠隔診療など、非日常的な対応も必要となろう。さらに様々なシナリオに基づいた訓練を繰り返し、必要に応じた改訂を重ねていくことも重要となる。

特に、大流行時においては、緊急対応の鍵となる医療サービスの維持、確保が全てを左右する。医療対応能力を超えて急増する患者への対応以外にも、職員の欠勤、医療器材・医薬品等の供給不足、検査や看護体制の確保、院内感染対策、医療廃棄物処理や環境衛生の維持、給食の確保など、各医療機関も具体的な緊急対応が迫られる。医療サービスが破綻すると、重症患者の診療が不可能となり、健康被害が増悪する。その結果、社会機能の麻痺が加速され、社会基盤の破綻も懸念される事態となろう。

[ワクチン政策の重要性と緊急課題]

強毒型パンデミックで生じるこのような事態を回避・軽減するためには、入院を要する重症患者の発生を医療対応能力の範囲内に抑え、軽症化された患者の在宅治療を可能にすることが必須となる。そのためには、新型インフルエンザ出現前または出現直後に多くの国民に対してワクチン接種を行って、防御免疫を賦与しておくことが最も効率が高いと考えられている。そのためには、国民全員分のプレパンデミックワクチンを事前に備蓄または発生直後速やかに大量製造して、緊急に接種できるように事前に準備をしておくことが必要である。

甚大な健康被害が出ると予想される H5N1 については、3000 万人分のプレパンデミックワクチンが国によって備蓄されている。社会機能の維持に不可欠な職種を中心に、ワクチン接種の優先順位が決められているが、その使用方法については検討中である。しかし、一般国民は、新型ウイルスが出現してから開発されるパンデミックワクチンの供給開始まで、半年以上待たねばならず、さらに国民全員を接種するには 1 年半もかかるのが現状である。一方、3 年前に備蓄されたプレパンデミックワクチンについては有効期限が切れつつあり、補充更新が必要となっている。

そこで、第 1 の課題として、国民全員分のプレパンデミックワクチンの備蓄を確保することが重要となろう。このためには、プレパンデミックワクチンの製造と備蓄施設に要する費用の確保が必要となる。

さらに、優先接種順位の高い職種を対象として、希望者に対して段階的に先行接種を進め、安全性と有効性に関する情報を収集して、緊急時における大規模なワクチン接種に備えることが必要である。今回のパンデミックワクチンでは、十分な安全性、有効性を検証する時間がなく、特に新規アジュバントや組織培養ワクチンについては、特例承認による輸入がなされた。しかし、そのためのリスク評価が十分になされたとは到底考えられない。

安全性・有効性の確保はワクチン政策の根幹であり、特に緊急時には品質確保のための試験を十分に行う時間的な余裕が無いことから、現在承認され、備蓄されているプレパンデミックワクチンについて、拡大した臨床試験は是非とも実施すべき課題である。その結果、安全性と有効性が確保された場合には、H5N1 パンデミック出現のリスク評価の結果を考慮しつつ、より多くの人を対象として、事前接種によって予め基礎免疫を賦与しておくことも検討すべきであろう。

2 番目の対応としては、新型ウイルスが出現してから半年以内に国民全員分のパンデミックワクチンを緊急製造できる体制を確立することである。そのためには、組織培養ワクチンの実用化

が最善策である。これによって、より安全で有効性の高いワクチンが短期間で製造可能となることから、欧米のメーカーの一部では既に実用化されている。政府は、5 年後を目標に研究開発事業を進めており、今後、臨床試験の実施、製造設備の建設、製造承認の取得などの実施が計画されているが、さらにその実施を短縮することが必要となっている。このための技術的、経済的な支援の継続と更なる強化が必要である。

これに加えて、接種方法が簡便で、異なる亜型や抗原変異ウイルスに対しても幅広い交差性の感染防御免疫を誘導できる経鼻投与方法の開発を進めており、これに関しても実用化に向けた支援が必要である。

[国家、地方、地域、職場・事業所、家庭・個人レベルにおける準備]

公衆衛生活動や医療サービスの対応能力には限界がある。医療施設の拡充や医療従事者の教育には時間がかかるので、緊急には対応できない。この限界を超える多数の患者が医療機関に殺到すれば、医療体制は麻痺し、通常の患者に対する医療提供も滞って、健康被害はますます増大し、2 次的に社会機能の破綻を招く。

これを回避するには、集中した流行のピークを少しでも遅らせ、また平坦化することによって、患者発生数を医療サービスの対応能力以内に留めることが必要である。それには、感染伝播のリスクを減らすこと、すなわち極力外出を避け、人との接触の機会を減らす篭城作戦が有効である。不要不急の外出、集会等の自粛は勿論である。外出の主な理由は通勤、通学、日常の買い物である。これらの感染リスクを減らすには、職場閉鎖、学校閉鎖、店舗閉鎖、交通制限等の介入手段であるが、それらの実施には、在宅勤務による業務の継続、家庭での教育の継続、食料品・日用品の事前備蓄など、社会的基盤を準備することが必須となる。

また、各職場や事業所においては、社会機能維持のために維持すべき事業継続計画をたて、計画的に事業の縮小や停止、および回復計画の実施を行う必要がある。これが行われない場合には、回復不可能な事業の崩壊も予想される。

このような方策の実施は大きな社会的影響、経済的損失を伴うが、強毒型の新型インフルエンザ大流行は地球レベルの大災害であり、ある程度の被害を覚悟し許容せざるを得ない。新型インフルエンザの発生リスクを少しでも低減すること、また大流行時の健康被害を最小限にとどめ、社会機能を維持するための対策準備が必要である。医療や公衆衛生のみならず、国家・社会機能の全分野が関わる問題であり、広い情報共有が必須である。特に、流行時の医療サービスの提供や社会機能の維持の実施主体は自治体であり、また全国企業の90%以上を占める中小企業に関する指導・対応も自治体の責任である。各自治体における危機意識の共有と、事前準備・緊急対応計画の策定と実施を緊急に進める必要があり、国による適切な指導・支援が必要である。

今回の弱毒性ウイルスによるパンデミックでは健康被害や社会的影響は比較的小さかったが、H5N1 等の強毒型の新型インフルエンザに対しては、H1N1 への対応では到底対応できない。従って、強毒型パンデミックによる最悪のシナリオを想定した事前準備と対応計画を怠ってはいけない(添付図 18.19.)。

E. 結論

国内外の緊急事態に即応する新型インフルエンザ危機管理体制を再構築する必要がある。

わが国でも厚生労働省が中心となり、平成 16 年以来、新型インフルエンザ対策行動計画の策定と改定、具体的な行動計画細目をガイドラインとして策定し、必要な法改正等を行ってきた。しかし一方で、新型インフルエンザの出現時期が予想不可能であるために、新型インフルエンザの危機が生じてから 6 年目を迎え、関係者間での危機感の共有と政策実施の継続が困難となっていた。

ここに、弱毒型の A(H1N1) pdm ウイルスによる比較的軽度のパンデミックが起こった。そのため

に、健康被害はそれほど大きくならず、社会的影響も比較的小さかった。その結果、新型インフルエンザに対する認識が後退し、たいしたことにはならないとの誤った安心感が広がり、却って危機感が後退している。

一方で、初期の過剰対応やワクチン政策の混乱などから、政府の対応に対する批判が広がり、新型インフルエンザに対する危機管理、危機対応の問題意識が後退している。

そこで、今回の対応を反省し、最悪のシナリオにも対応できるような、より効果的で必要十分な新型インフルエンザへの準備を強化すべきである。

F. 健康危害情報

A(H1N1) pdm ウイルスは弱毒型であり、免疫学的にも季節性 H1N1 ウイルスと交差する免疫学的性状を持つ。従って、H5N1 で予想されるような膨大な健康被害や壊滅的な社会的影響は生じない。

一方、H5N1 強毒型の新型インフルエンザ出現のリスクは減っておらず、これから新型ウイルスが出現した際の影響を考慮すると、最悪の状況に備えた十分な事前準備と緊急対応計画を再検討し、早急に十分な準備をすすめることは必須である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawakami, C., Obuchi, M., Saikusa, M., Noguchi,Y., Ujike, M., Odagiri, T., Tashiro,M.:Outbreaks of oseltamivir-resistant influenza A/H1N1 virus in an elementary school and a family in Yokohama City, Japan during the 2007-2008 season. Jpn. J. Infect. Dis. 62: 83-86, 2009.

Takahashi, Y., Hasegawa, H., Hara, Y., Ato, N., Ninomiya, A., Takagi, H., Odagiri, T., Sata, T., Tashiro, M., Kobayashi, M. :Protective immunity afforded by H5N1 (NIBRG-14) – inactivated vaccine requires both antibodies against hemagglutinin and neuraminidase in mice. J. Infect. Dis.199; 1629-1637, 2009

Wada, T., Morishima, T., Okumura, A., Tashiro,M., Hosoya, M., Shiomi, M., Okuno, Y.: Differences in clinical manifestations of influenza-associated encephalopathy by age. Microbiol. Immunol. 53: 83-88, 2009

Ikeno, D., Kimachi, K., Kudo, Y., Goto, S., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Kino, Y.: The prime-boost vaccination of H5N1 heterologous strains in a moumodel :Vaccine: 27, 3121-3125, 2009.

Thongratsaku, S., Songserm, T., Poolkhet, C., Kondo, S., Yagi, H. Hiramatsu, H., Tashiro, M., Okada, H.,Kato,K., Suzuki, Y. :Determination of N-linked sialyl-sugar chains in the lungs of domestic cats and dogs in Thailand susceptible to the highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). Open Glycoscience , 2:28-36, 2009.

Ichinohe, T., Tashiro, M., Sata,T., Hasegawa,H. :PolyI:PolyC$_{12}$U adjuvant-combined intranasal vaccine protects mice against highly pathogenic H5N1 influenza virus variants.Vaccine 27; 6276-6279, 2009

Tashiro, M., McKimm-Breschkin, J., Saito, T., Klimov,A., Macken, C., Zambon, M., Hayden, F.:Surveillance for neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses in Japan, 1996-2007.Antiviral Therapy 14: 751-761, 2009

WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group; Brown, I. H., Capua, I., Cattoli, G., Chen, H., Cox, N., Davis, T., Donis, R. O., Fouchier, R. A. M. Garten, R., Guan, Y., Kawaoka, Y., Mackenzie, J., McCauley, J., Mumford, E., Olsen, C., Perdue, M.,Russell, C. A., Smith, C., Smith, D., Smith,G. J. D., Shu, Y., Tashiro, M., Vijaykrishna,D.,

Webster,R. :Continuing progress towards a unified nomenclature for the highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses: divergence of clade 2.2 viruses. J. Influenza. Resp. Viral Infect. 3: 59-62, 2009.

Sriwilaijaroen, N., Wilairat, P., Hiramatsu, H., Takahashi, T., Suzuki, T., Ito, M., Ito, Y., Tashiro, M., Suzuki, Y.:Mechanisms of the action of povidone-iodine against human and avian influenza A viruses: its effects on hemagglutination and sialidase activities. Virology Journal. 6:124, 2009

Bertozzi, S., Kelso, A., Tashiro, M., Savy, V., Farrar, J., Osterholm, M., JameelS.,Muller,C.P. :Pandemic flu: from front lines. Nature 461; 20-21, 2009

Ichinohe, T., Ainai, A., Nakamura, T., Akiyama, Y., Maeyama, J., Odagiri, T., Tashiro, M., Takahashi, H., Sawa,H., Tamura, S., Chiba, J., Kurata, T., Sata, T., Hasegawa, H.:Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by an intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia J. Med. Virol. 82: 128-137, 2010.

Ujike, M., Shimabukuro, K., Mochizuki, K., Obuchi, M., Kageyama, T., Shirakura, M., Kishida, N., Yamashita, K., Horikawa, H., Kato, Y., Fujita, J., Tashiro, M., Odagiri, T., the working group of influenza virus surveillance in Japan. :Detection of Oseltamivir-resistant influenza viruses in Japan during the 2007-2009 influenza seasons Emerging. Infectious Dis. (submitted)

Ainai, A., Ichinohe, T., Tamura, S. Kurata, T., Sata, T., Tashiro, M., Hasegawa, H.:Zymosan enhances the mucosal adjuvant activity of Poly(I:C) in a nasal influenza vaccine, J. Med.Virol.82:476-484.2010

Nakajima, N., Hata, S., Sato, Y., Tobiume, M., Katano, H., Kaneko, K., Nagata, N., Kataoka, M., Ainai, A., Hasegawa, H., Tashiro, M., Odai, T., Urasawa, N., Ogino, T., Hanaoka, H., Watanabe, M., Sata, T. :First autopsy case with pandemic influenza (A/H1N1pdm) virus infection in Japan: Detection of high copy number of the virus in type II alveolar epithelial cells by pathological and virological examination. Jpn. J. Infect. Dis.63;67-71.2010

Barr, I. G., McCauley, J., Cox, N., Daniel, R.,Engelhardt, O. G., Fukuda, K., Grohmann, G., Hay, A., Kelso, A., Klimov, A., Odagiri, T., Smith, D., Russell, C., Tashiro, M., Webby, R., Wood, J., Ye, Z., Zhang, W., Writing :Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2009–2010 Epidemiological, antigenic and genetic characteristics of seasonal influenza A(H1N1), A(H3N2) and B influenza viruses: Basis for the WHO recommendation on the composition of influenza vaccines for use in the 2009–2010 Northern Hemisphere season.Vaccine 28: 1156–1167, 2010.

[WHO 勧告、ガイドライン、報告等]

Seventh meeting of the IHR Emergency Committee
23 February 2010

Recommended viruses for influenza vaccines for use in the 2010-2011 northern hemisphere influenza season
11 February 2010

Preliminary review of D222G amino acid substitution in the haemagglutinin of pandemic influenza A (H1N1) 2009 viruses
28 December 2009

Laboratory biorisk management for laboratories handling human specimens suspected or confirmed to contain influenza A (H1N1) causing the current international epidemics

30 November 2009

Sixth meeting of the IHR Emergency Committee
26 November 2009

WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans - revised
23 November 2009

Summary of available potency testing reagents for Pandemic (H1N1) 2009 virus vaccines
20 November 2009

Fifth meeting of the IHR Emergency Committee
23 September 2009

Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2010 southern hemisphere influenza season
23 September 2009

Instructions for transport of virus cultures (i.e. virus isolates) of candidate reassortant vaccine viruses of pandemic (H1N1) 2009 virus
27 July 2009

WHO recommendations on pandemic (H1N1) 2009 vaccines
13 July 2009

Fourth meeting of the IHR Emergency Committee
11 June 2009

Human infection with pandemic (H1N1) 2009 virus: updated interim WHO guidance on global surveillance
10 July 2009

Third meeting of the IHR Emergency Committee
5 June 2009

Consultation on potential risks of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus at the human-animal interface
3 June 2009

Update of WHO biosafety risk assessment and guidelines for the production and quality control of human influenza pandemic vaccines
28 May 2009

Characteristics of the emergent influenza A (H1N1) viruses and recommendations for vaccine development
26 May 2009

Summary report of a High-Level Consultation: new influenza A (H1N1)
22 May 2009

Instructions for storage and transport of suspected or confirmed human and animal specimens and virus isolates of pandemic (H1N1) 2009
20 May 2009

Recommendations of the Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) on Influenza A (H1N1) vaccines
19 May 2009

Protocol for antiviral susceptibility testing by pyrosequencing
13 May 2009

Sequencing primers and protocol
12 May 2009

Status of candidate vaccine virus development for the current Influenza A(H1N1) virus
9 May 2009

Countries able to perform PCR to diagnose influenza A (H1N1) virus infection in humans