

## メタボローム解析を用いたインフルエンザ脳症患者血清中の バイオマーカー候補の検討

分担研究者 伊藤 嘉規 名古屋大学医学部小児科学・講師

**研究要旨** インフルエンザ脳症における血清中の新規バイオマーカーを探索する目的で、インフルエンザ脳症12例と神経合併症のないインフルエンザ22名において、急性期・回復期血清検体中の代謝物プロファイリングをメタボローム解析にて検討した。検出された物質の中で、脳症群（急性期）では、コントロール群（急性期）と比較して、3種類の代謝物質の平均値に有意な上昇が認められた。これらの中で、tryptophan-kynurenine代謝経路の中間産物であるキヌレニンは、神経毒性が報告されている物質であり、病態に関与するバイオマーカー候補と考えられた。さらにkynurenineの下流代謝物であるquinolinic acidも、検体を追加して検討した結果、バイオマーカーの可能性が示唆された。

### A. 研究目的

インフルエンザ脳症では、感染に伴って惹起されるサイトカインなどの炎症性物質が病態に関与するとの報告があるが、なぜ脳症が起こるのか、どのようにして病態が進展するのかは十分に明らかにされていない。さらに、病態に関連する新規のバイオマーカーの探索は臨床上の意義が大きい。インフルエンザに関連するライ症候群では、病態として代謝異常が存在するため、インフルエンザ脳症で代謝プロファイル調べることが、病態に関係する新規バイオマーカーの発見につながる可能性がある。最近、代謝プロファイルを解析する手法としては、メタボローム解析が注目されていることから、私共は、臨床検体として使用しやすい血清検体を用いて、インフルエンザ脳症のメタボローム解析を試みた。

### B. 研究方法

1. インフルエンザ脳症と診断した患者 12名と神経合併症のないインフルエンザ患者（コントロール群）22名の急性期および回復期血清を採取し、比較検討した（計 68 検体）。
2. CE-TOFMS 装置（キャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析、Agilent Technologies）を用いてカチオンモード、アニオンモードによる測定を行った。
3. 検出されたピークは自動積分ソフトウェアを用いて、ピーク情報を得た後、代謝物質データベースに登録された物質との

照合・検索を行った。

4. 主成分分析、階層クラスター分析、代謝経路の描出を行った。
5. 定量系のあるものでは定量値を算出し同様に比較を行った。
6. 解析結果を群間で比較し、バイオマーカー候補の検討を行った。
7. quinolinic acid について、さらに検討するため、インフルエンザ脳症 18 例、熱性けいれん例 12 例、神経合併症のない対照群 25 例で、血清中の quinolinic acid 濃度を測定し、比較検討した。

### C. 研究結果

1. 血清 68 検体について、CE-TOFMS によるメタボローム解析を行い、174 ピークに候補物質が付与された。
2. 検出されたピークを用いて主成分分析を行った（Data not shown）。階層クラスターリングを行い、HeatMap 表示させた結果を得た。
3. 候補化合物について、解糖系/糖新生、ペントースリン酸経路、クエン酸回路、尿素回路、プリン代謝経路、ピリミジン代謝経路、ニコチン酸・ニコチンアミド代謝経路および各種アミノ酸代謝経路に描画した（以上は、昨年度の報告書に詳細を記載した）。
4. 49 の物質で定量が可能であった。これらのうち、脳症群（急性期）では、コントロール群（急性期）と比較して、3 種類の代謝物質の平均値に有意な上昇がみられ、

他方、2種類で有意な低下が認められた(図1)。(検出ピークの情報を詳細に分析し、代謝物が付与できた物質を絞り込んだため、昨年の報告より修正・更新した)。

5. 上記の物質のなかで、kynurenine は、tryptophan-kynurenine 代謝経路の中間代謝物質で、神経毒性が報告されており、この代謝経路における解析結果を図2に示す。
6. kynurenine の下流の代謝物である quinolinic acid について、症例数を増やして検討した結果、脳症群の血清で有意な上昇を認めた(図3)。

#### D. 考察

メタボローム解析の結果を検討したところ、tryptophan-kynurenine 経路の代謝物である kynurenine と quinolinic acid が、病態に関係するバイオマーカー候補と考えられた。これらの代謝物は、中枢神経感染症、HIV 関連脳症、筋萎縮性側索萎縮症等で血清/髄液中の濃度上昇が報告されている。また、実験的に複数の作用機序による神経毒性も示されている。今後は、臨床的な応用の可能性についてさらに検討を加えていくことが重要と考えられる。

#### E. 結論

インフルエンザ脳症の患者血清を用いた代謝物プロファイリングを行い、脳症群で有意な変動を示した代謝物は、新しいバイオマーカー候補と考えられた。今後、より詳細な解析を行い、その意義を確認する予定である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hiraiwa-Sofue A, Ito Y, Ohta R, Kimura H, Okumura A. Human Herpesvirus 6-Associated Encephalopathy in a Child with Dravet Syndrome. *Neuropediatrics*, 44:155-158, 2013
- 2) Kimura H, Kawada J, Ito Y. Epstein Barr-viruses-associated lymphoid malignancies: the expanding spectrum of hematopoietic neoplasms. *Nagoya J Med Sci*, 75:169-179, 2013.
- 3) Kawano Y, Iwata S, Kawada J, Gotoh K, Suzuki M, Torii Y, Kojima S, Kimura H, Ito Y. Plasma Viral MicroRNA Profiles Reveal Potential Biomarkers for Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection. *J Infect Dis*. 208(5):771-779. 2013
- 4) Ito Y, Kimura H, Torii Y, Hayakawa M,

Tanaka T, Tajiri H, Yoto Y, Tanaka-Taya K, Kanegane H, Nariai A, Sakata H, Tsutsumi H, Oda M, Yokota S, Morishima T, Moriuchi H, Risk factors for poor outcome in congenital cytomegalovirus infection and neonatal herpes on the basis of a nationwide survey in Japan. *Pediatr Int* 55(5):566-571, 2013

- 5) Suzuki M, Torii Y, Kawada J, Kimura H, Kamei H, Onishi Y, Kaneko K, Ando H, Kiuchi T, Ito Y. Immunogenicity of inactivated seasonal influenza vaccine in adult and pediatric liver transplant recipients over two seasons. *Microbiol Immunol*, 57(10):715-722, 2013.
  - 6) Imahashi N, Nishida T, Ito Y, Kawada J, Nakazawa Y, Toji S, Suzuki S, Terakura S, Kato T, Murata M, Naoe T. Identification of a novel HLA-A\*24:02-restricted adenovirus serotype 11-specific CD8+ T-cell epitope for adoptive immunotherapy. *Mol Immunol* 56(4):399-405, 2013
  - 7) Kato S, Miyata T, Takata K, Shimada S, Ito Y, Tomita A, Elsayed A, Takahashi E, Asano N, Kinoshita T, Kimura H, Nakamura S. Epstein-Barr virus-positive cytotoxic T-cell lymphoma followed by chronic active Epstein-Barr virus infection-associated T/NK-cell lymphoproliferative disorder: a case report *Human Pathology* 44(12):2849-2852, 2013
  - 8) Suzuki M, Ito Y, Shimada A, Saito M, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Kimura H, Kojima S. Long-term parvovirus B19 infections with genetic drift after cord blood transplantation complicated by persistent CD4+ lymphocytopenia. *J Ped Hematol Onc*, 36(1):e65-68, 2014
  - 9) Hara S, Kawada J, Kawano Y, Yamashita T, Minagawa H, Okumura N, Ito Y. Hyperferritinemia in Neonatal and Infantile Human Parechovirus-3 Infection in Comparison with Other Infectious Diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20(1):15-19, 2014
- ##### 2. 学会発表
- 1) 伊藤嘉規、小児科病棟での迅速診断とその応用-入院児のウイルス感染症早期診

- 断と院内感染対策-、分野別シンポジウム 9、第 116 回日本小児科学会学術集会、広島、2013. 4. 19-21、日本小児科学会雑誌 117(2):S48, 2013
- 2) 鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規、メタボローム解析を用いたインフルエンザ脳症の新規バイオマーカーの探索、第 116 回日本小児科学会学術集会、広島、2013. 4. 19-21、日本小児科学会雑誌 117(2):158, 2013
  - 3) 鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規、メタボローム解析によるインフルエンザ脳症患者血清中の代謝物プロファイリング、第 87 回日本感染症学会学術講演会、横浜、2013. 6. 5-6、感染症学雑誌 87(臨時増刊号):330, 2013
  - 4) Yuka Torii, Yoshihiko Kawano, Hajime Sato, Tamaki Fujimori, Kazunori Sasaki, Jun-ichi Kawada, Yoshiaki Ohashi, Yoshinori Ito, Quantitative metabolome profiling reveals novel potential biomarkers in influenza-associated encephalopathy, IDWeek 2013, San Francisco, USA, October 2-6, 2013
  - 5) Yoshihiko Kawano, Yuka Torii, Hajime Sato, Tamaki Fujimori, Kazunori Sasaki, Jun-ichi Kawada, Yoshiaki Ohashi, Yoshinori Ito, Quantitative metabolome profiling reveals novel potential biomarkers in human herpesvirus 6 encephalopathy, IDWeek 2013, San Francisco, USA, October 2-6, 2013
  - 6) 鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規、メタボローム解析を用いたインフルエンザ脳症・HHV-6 脳症における新規バイオマーカーの探索、第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会、札幌、2013. 10. 26
  - 7) 伊藤嘉規、河野好彦、鳥居ゆか、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、木村宏、国際標準物質を用いた EBV・CMV 定量 PCR 系の標準化、第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会、札幌、2013. 10. 26
  - 8) 川本愛里、岩澤賢太郎、近藤健夫、角野知之、十河剛、小松陽樹、乾あやの、伊藤嘉規、森雅亮、横田俊平、藤沢知雄、全身型若年性突発性関節炎に伴う肝機能異常の検討、第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会、札幌、2013. 10. 26
  - 9) 鈴木道雄、中川光、岩田誠子、五島典、伊藤嘉規、村田貴之、鶴見達也、木村宏、EBV 関連 T/NK 腫瘍に対する Hsp90 阻害剤の効果、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、2013. 11. 10-12
- G. 知的財産権の取得状況
1. 特許取得  
特になし
  2. 実用新案登録  
特になし
  3. その他  
特になし

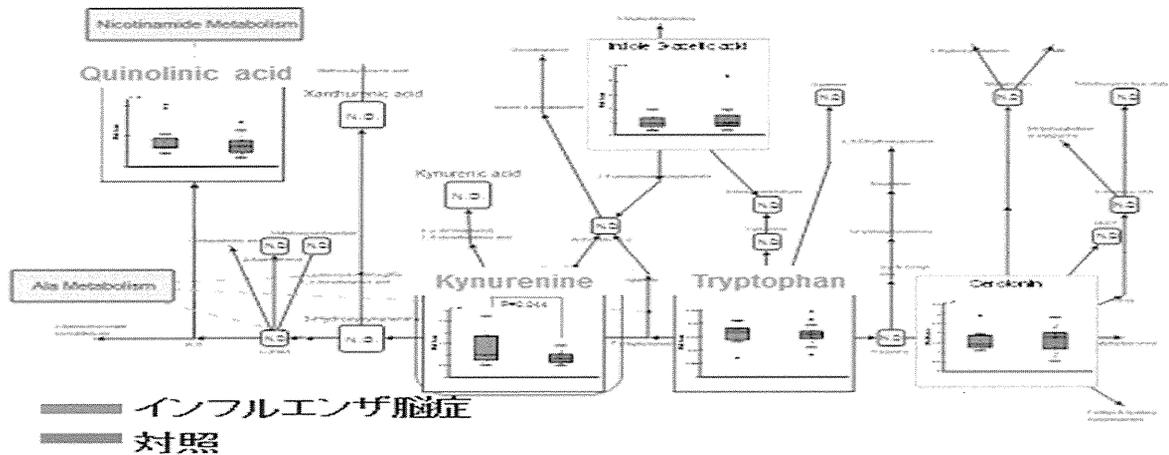
# (図1) バイオマーカー候補

	同定された化合物	定量された物質
インフルエンザ脳症	174種	49種

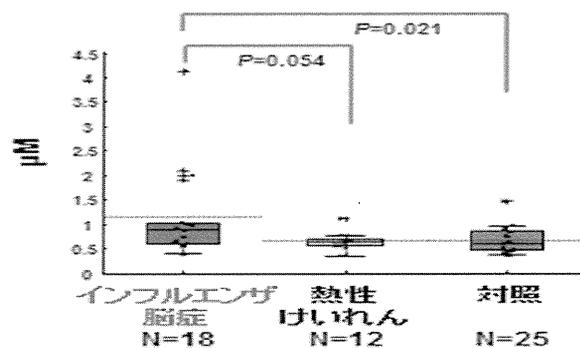
脳症で有意に上昇/低下していた代謝物質

- インフルエンザ脳症 > 対照  
 Kynurenine  
 Succinic Acid  
 Undecanoic acid
- インフルエンザ脳症 < 対照  
 Cystine  
 Decanoic acid

## (図2) Kynurenine代謝経路の代謝物の動態



## (図3) Quinolinic acidの定量結果



## 小児の中枢神経感染症の疫学

### ～多因子解析を通じた重症化メカニズムの予測～

研究分担者 氏名 宮入 烈

所属・役職 国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 感染症科

**研究要旨** インフルエンザを含む小児のウイルス性中枢神経感染症について、病原体ごとに患者背景・症状・身体所見・検査所見・重症度を含む多因子解析を行い、各因子の相関関係は無作為に図式化した。インフルエンザ入院症例についての解析により患者は呼吸器型、熱性けいれん型、全身型に分類された。呼吸器型と熱性けいれん型の比較では、熱性けいれん患者で有意に男児が多く年齢が低いことが示されたが、インフルエンザの型や基礎疾患の有無についての有意差は認められなかった。またヒトパレコウイルス感染症 29 例を対象とした多因子解析では、ウイルス量と重症度の相関が認められた。多因子解析は新たな感染症の重症化メカニズムを客観的に評価する有効な手段であると考えられた。

#### A. 研究目的

重症小児ウイルス感染症の重症化にかかわる多因子の解析を行い、病型分類、リスクファクターの評価および治療介入方法の検討を行う。今回は特に新興・再興感染症として注目されるインフルエンザウイルスとヒトパレコウイルスに対する検討を行った。

#### B. 研究方法

① 原因不明の重症感染症患者を対象に各種検体を用いて、迅速抗原検査による診断あるいはリアルタイム PCR を国立成育医療研究センターで行った。

② インフルエンザ、ヒトパレコウイルスが確認された重症患者を対象に後方視的に電子カルテより以下の情報を抽出した。

- ・ 性別、日齢、出生体重・週数

- ・ 症状：けいれん、無呼吸、嘔吐、
- ・ ヒトパレコウイルスについてはリアルタイム PCR を用いたウイルス量（血清、髄液）解析を $\Delta$ CT法で行った。
- ・ バイタルサイン
- ・ 血液・髄液検査所見
- ・ 合併症：MRI 所見、EEG 所見

各因子間の相関係数を pearson/spearman 解析で算出し、相関を線で表し図式化した。

③ 病型や重症度に寄与する要因についての統計的な解析は SPSS を用いて検討した。

（倫理面への配慮）

同研究は後方視的な検討であり、直接の患者介入は行わない。抽出した情報は匿名化し個人情報保護を行う。

C. 研究結果

① 2012年10月-2013年2月の間にインフルエンザにて入院した症例は30例であった。多因子解析の結果(図1)、入院症例は呼吸器症状を主体とする患者、熱性けいれん

んで入院した患者、全身状態不良(敗血症様、心筋炎など)で入院した病型に分類された。2009年シーズンにおける197例はほぼA(H1N1)pdm09型と考えられるが、呼吸器型患者が大勢を占め、一方で熱性けいれん

図1 インフルエンザ感染症における多因子解析結果(2012-13年シーズン)

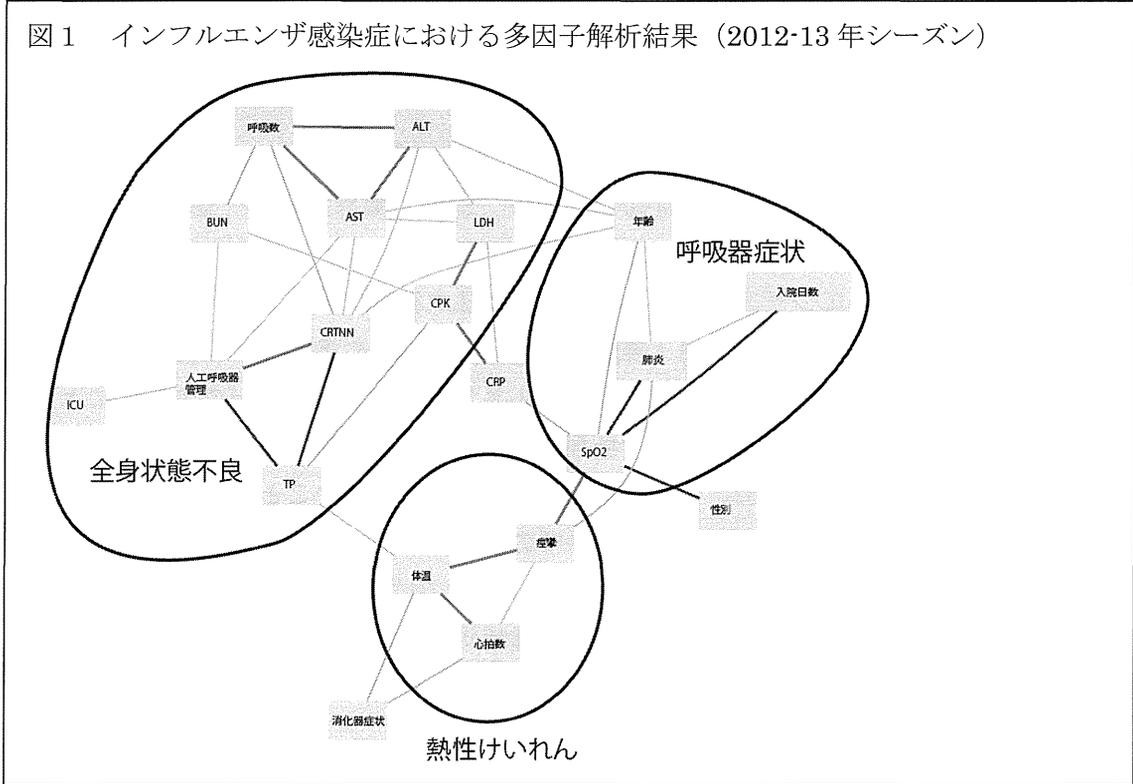
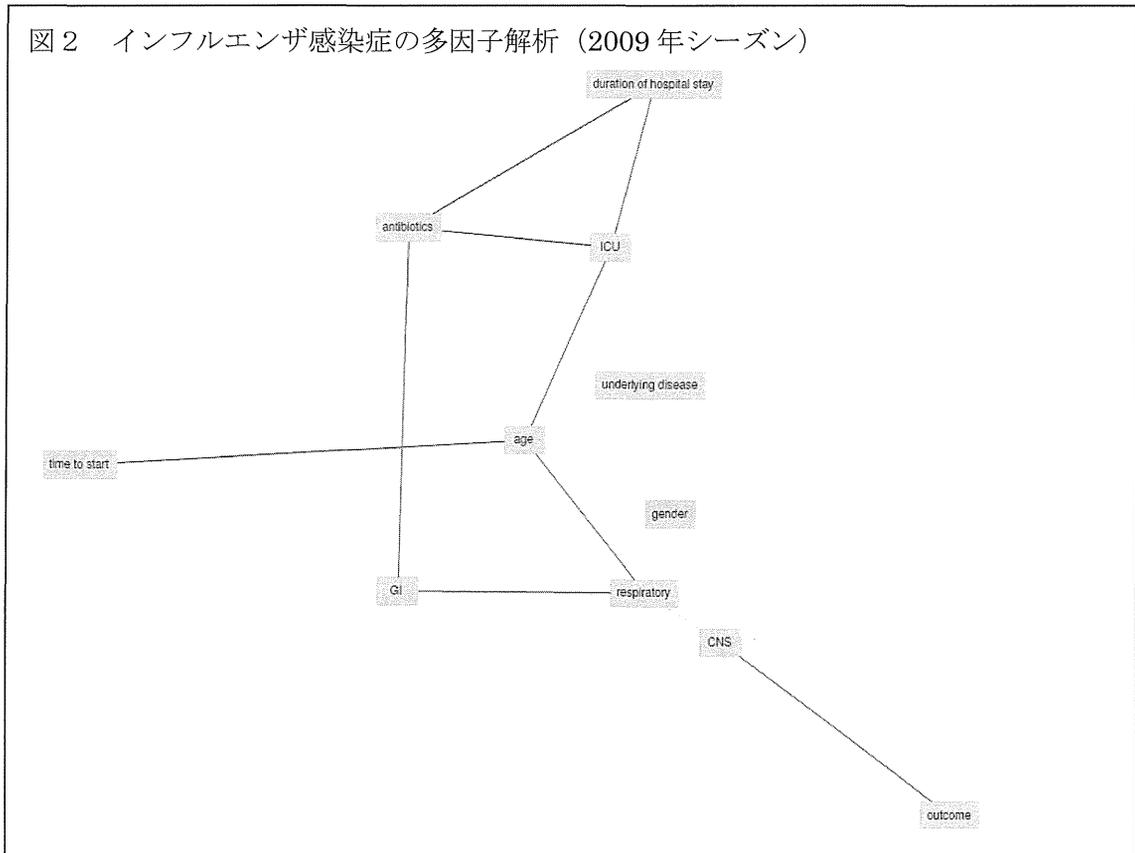


図2 インフルエンザ感染症の多因子解析(2009年シーズン)



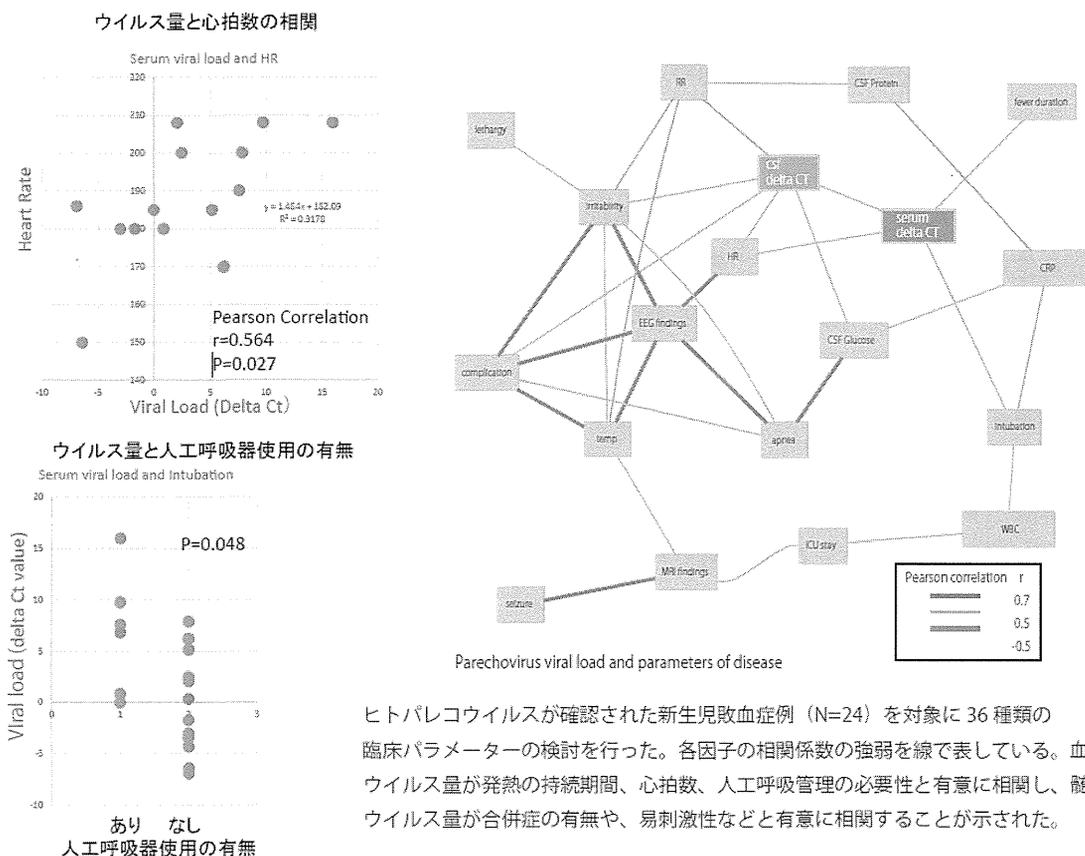
型の患者群の多くは目立った呼吸器症状を呈さず病型が異なることが示唆された。2013年12月から2014年2月8日までに入院した49症例についても同様の結果が得られた。明らかな脳炎症例は同期間にはなく、解析の対照にはならなかった。呼吸器型の病型を呈した中には、人工呼吸器管理を要する患者が2名、うち1名は鋳型気管支炎がありECMO管理を要した。

② 2013-2014シーズンにおけるインフルエンザ感染症を呼吸器型とけいれん型に分類し、背景因子を分析したところ、けいれん型で男児が多く(78.5% vs 53.5%:  $p=0.03$ )、年齢が低かった(2.5歳 vs 5.4歳:  $p=0.02$ )。他の背景因子である型別、ワ

クチンの有無、基礎疾患の有無、投薬までの時間には差を認めなかった。それぞれ、軽症から重症の患者を認め、最終的な入院日数や予後にも統計学的な有意差は認めなかった。

③ 2011年1月から2013年10月までの期間に29症例のヒトパレコウイルス感染症患者を診断した。ヒトパレコウイルスを対象に多因子解析を行った。(図2)血清中のウイルス量が発熱期間・心拍数や人工呼吸の必要性など全身状態と相関したのに対して、髄液中のウイルス量はMRI所見・髄液糖・合併症の有無など中枢神経所見と相関する傾向が認められた。

図2 ヒトパレコウイルス感染症における多因子解析結果



ヒトパレコウイルスが確認された新生児敗血症例(N=24)を対象に36種類の臨床パラメーターの検討を行った。各因子の相関係数の強弱を線で表している。血清中のウイルス量が発熱の持続期間、心拍数、人工呼吸管理の必要性と有意に相関し、髄液中のウイルス量が合併症の有無や、易刺激性などと有意に相関することが示された。

#### D. 考察

本解析により重症ウイルス感染症の病態を客観的に評価することが可能であることが示唆された。

インフルエンザ症例の解析においては、従来の報告同様に、呼吸器症状を主体とする患者群、中枢神経型の病型を呈するものに分かれ、その例数や構成はシーズンにより異なり、流行株のもつ病原性を反映するものと思われた。一方で本検討は入院例のみを対象としており、軽症例を反映しておらず全体像を反映するものではない可能性がある。また、最重症例の検討数は数例に限られるため、統計的な手法ではこれら症例の特徴が反映されないという限界がある。過去数年の症例の情報を集積し、亜型やウイルス量などより多くの因子を解析に含め、今後は治療介入との相関を検討することが必要である。

ヒトパレコウイルスは近年その存在が明らかとなり、新生児の敗血症の原因ウイルスとして注目されているが、その病態や治療はほとんど知られていない。本検討では、血清中のウイルス量が心拍数や有熱期間など全身性の所見に影響を与え、髄液中のウイルス量が痙攣など中枢神経系の所見と関連していたことから、同疾患においてはウイルス量が重症度と関連していると考えられた。

また当院で新生児の重症敗血症例としてガンマグロブリンが投与された一例でパレコウイルスが同定されたため、保存検体を用いてウイルス量を経時的にフォローした。結果、投与後 24 時間以内にウイルス量が 1000 分の 1 に低下し、症状の軽快が認めら

れ同疾患に対する治療介入方法についての示唆が得られ、多因子解析の結果を裏付ける結果となった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Shoji K, Komuro H, Miyata I, Miyairi I, Saitoh A:  
Dermatologic manifestations of human parechovirus type 3 infection in neonates and infants. The Pediatric Infectious Disease Journal 2013;32:233-236

##### 2. 学会発表

Funaki T, Miyata I, Shoji K, Matsumoto S, Muguruma T, Sakamoto S, Kasahara M, Miyairi I: Therapeutic Drug Monitoring and Viral Load Monitoring in a Case of Disseminated Neonatal Herpes Simplex Virus Infections. 28th International Congress of Chemotherapy and Infection (ICC 2013), Yokohama, 2013.6.6

手塚 宜行、宮田 一平、庄司 健介、問田 千晶、六車 崇、宮入 烈  
免疫グロブリン静注療法を受けた重症 Human parechovirus 感染症の一例  
第 45 回日本小児感染症学会学術集会。2013 年 10 月。

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

## インフルエンザ脳症の遺伝子多型解析

分担研究者 蕙田泰誠

所属・役職 理化学研究所統合生命医科学研究センター・グループディレクター

### 研究要旨

インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する遺伝子を、全ゲノム領域を対象とした一塩基多型（SNP）解析にて同定し、インフルエンザ脳症の発症リスクを事前に予測できるシステムを開発することを目的としている。本年度は、日本人小児インフルエンザ脳症患者 72 名（ケース群）及び日本人一般集団 934 名（コントロール群）の全ゲノム関連解析（GWAS）で既に得られている SNP の遺伝子型の情報を基にして、「ジェノタイプ・インピュテーション（遺伝子型予測）」の手法を用いて関連遺伝子領域を探索した。

### A. 研究目的

日本においてインフルエンザの学童罹患数は、年間 50 万から 100 万人である。そのうち 100 から 300 人がインフルエンザ脳症を合併する。インフルエンザ脳症の死亡率は 30%前後と高く、生存例においても重篤な後遺症を残す症例が多いため社会的関心が高まっている。

インフルエンザ脳症の詳細な発症機序は不明であるが、日本人での報告が多いことから遺伝的因子が関与していると考えられる。本研究では、インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する遺伝子を同定するため、一塩基多型（SNP）を用いて、全ゲノム領域を対象とした関連解析（genome-wide association study: GWAS）を行う。インフルエンザ脳症の発症における遺伝的背景を解明することができれば、ハイリスク群を事前に特定でき、ワクチン接種等の積極的な予防が可能となる。また、感受性遺伝子の同定は、インフルエンザ脳症の新たな治療法の開発にもつながることが期待される。

### B. 研究方法

#### 研究対象

インフルエンザ脳症を発症した 1 歳以上の日本人小児 85 症例。

#### SNP 解析

本年度は、日本人小児インフルエンザ脳症患者 72 名（ケース群）及び日本人一般集団 934 名（コントロール群）の GWAS で既に得られている約 50 万箇所の SNP の遺伝子型の情報を基にして、「ジェノタイプ・インピュテーション（遺伝子型予測）」の手法を用いて関連遺伝子領域を探索した。

（倫理面への配慮）

#### 1. 研究等の対象とする個人の人権擁護

本研究に同意するか否かは本人（対象が 16 歳未満の場合は、本人および代諾者）の全くの自由意志に委ねられ、同意しない場合であってもいかなる不利益も被ることはないことを保証する。本研究は連結可能匿

名化を行う。個人識別情報は、担当者が厳重に保管・管理し、外部へは決して提供しない。また、同意はいつでも撤回できることを保証する。同意が撤回された場合は、すみやかに検体をオートクレーブにかけ廃棄する。

#### II. 研究への参加者に理解を求め同意を得る方法

検体の提供を受ける際には、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者および代諾者）との質疑応答を経て、本研究についてじゅうぶんに理解されたことを確認した後、同意を得る。これらの説明文書では、本研究の意義、目的、遺伝子解析などについて解説し、プライバシーの保護の方法、提供者の権利、研究に協力することの利益と不利益、本研究終了後の検体の取り扱い方針について説明する。同意をいただいた方には、同意書に自署をお願いする。同意書は、鍵のかかるロッカーにて厳重に保管・管理する。

#### III. 研究によって生じる個人への不利益ならびに危険性と科学的な貢献の予測

本研究成果により、インフルエンザ脳症の感受性遺伝子が同定されれば、ハイリスク群をスクリーニングすることが可能となる。インフルエンザの感染予防に対してはワクチンの接種という非常に有効な予防法が存在するため、ハイリスク群に対しては積極的にワクチン接種をすすめることにより、インフルエンザ脳症の罹患を予防することが可能となる。

また、感受性遺伝子の同定は、その遺伝子またはカスケードをターゲットとした新たな治療法の確立にも貢献すると確信する。

個人情報の漏洩により人権の侵害を被る可能性があるが、本研究では、担当者が個人情報を厳重に保管・管理し、個人情報・

プライバシーの保護には万全をつくす。

インフルエンザ脳症は、ほとんどが10歳までの発症であり、遺伝的背景を研究することは、患者の健康に対して利益はあるものの、その後の社会的な不利益や危険性があるとは常識的に考えられない。

#### IV. 遺伝カウンセリング体制の整備

個人情報の管理に記したように、本研究の結果を提供者が知ることにより提供者や血縁者の生命の危機を回避できる可能性がある。この場合には、遺伝子情報を提供者や家族に報告する可能性がある。そのような遺伝情報を知ることは、生命危機を回避することを目的にしているため、患者および家族の利益となるが、そのことを正確に理解し、受け入れることを支援するために日本遺伝カウンセリング学会認定医が遺伝カウンセリングを行う体制を整備している。

#### V. 研究終了後の検体の取り扱い

提供者の承諾が得られた場合に限り将来の本研究以外のインフルエンザ脳症に関連した医学研究に用いることがある。ただし、その場合は連結不可能匿名化を行う。研究終了後の保管に関しては、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者および代諾者）に十分説明する。

研究終了後の検体の保管を承諾されなかった場合には、すみやかに検体をオートクレーブにかけ破棄する。

#### C. 研究結果

ジェノタイプ・インピュテーションにより、解析対象のSNPを約250万箇所を増やすことができた。関連解析において、21箇所のSNPがGWAS有意水準 ( $5.0 \times 10^{-8}$ ) をクリアした。最もP値が小さいSNPでは、 $P = 3.59 \times 10^{-20}$ 、オッズ比 = 12.6 (95%信頼区間、6.36-24.9) であった。

#### D. 考察

ジェノタイプ・インピュテーションとは、実際のゲノム解析で得られた約 50 万箇所の SNP の遺伝子型情報と、公共データベース 1000 Genomes に登録されている全ゲノム上の数百万箇所の SNP 情報を基に、専用の遺伝子型予測ソフト MaCH-Admix を用いて、実際に解析した SNP の近傍にある SNP の症例毎の遺伝子型を統計学的に推定する方法である。インピュテーションにより、解析対象の SNP を大幅に増やすことができ、現在、GWAS 有意水準 ( $5.0 \times 10^{-8}$ ) をクリアした SNP の関連性を検証中である。

#### E. 結論

日本人小児インフルエンザ脳症患者の GWAS で既に得られている SNP の遺伝子型の情報を基にして、ジェノタイプ・インピュテーションの手法を用いて関連遺伝子領域を探索した。

#### F. 研究発表

なし

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

## 感染症発生動向調査に基づいた 2013/2014 シーズンのインフルエンザの発生動向と同時期の入院サーベイランスおよびインフルエンザ脳症報告の解析結果について

研究分担者：多屋馨子（国立感染症研究所感染症疫学センター）

研究協力者：安井良則（大阪府済生会中津病院）

研究協力者：砂川富正（国立感染症研究所感染症疫学センター）

### 研究要旨

感染症発生動向調査による 2013/2014 シーズン（2014 年第 6 週まで）の日本国内におけるインフルエンザの発生動向とインフルエンザ脳症の報告、およびインフルエンザによる入院サーベイランスの結果とそれぞれの解析結果について示す。2013/2014 シーズンのインフルエンザの流行は、2014 年第 5 週にインフルエンザの定点当たり報告数が 34.44（患者報告数 170,403）と今シーズンの最高値となった。2014 年第 5 週までの累積の推計受診患者数は 462 万人（95%信頼区間：442～482 万人）であり、過去 2 シーズンの同時期の累積の推計受診患者数よりも少なかった。累積の推計受診者数に占める小児の割合は 2011/2012 シーズンよりも低かったものの、2012/2013 シーズンよりは高かった。また、60 歳以上の高齢者の占める割合は 2011/2012 シーズンとほぼ同等であり、2012/2013 シーズンよりも大幅に低かった。2013/2014 シーズンは 2014 年第 5 週までに国内では 1,482 検体のインフルエンザウイルスの検出が報告された。A/H1N1pdm が 591 件（39.9%）、A/H3N2 が 538 件（36.3%）、B 型 353 件（23.8%）であり、本格的な流行となった 1 月以降は A/H1N1pdm が最多となっている。インフルエンザ脳症の報告数は 2014 年第 6 週までに 33 人（暫定値）が報告されており、60 歳以上の割合は 12.1%（4 人）と 2012/2013 シーズンよりも大きく減少している一方で、13 歳以下の小児が 25 人（75.8%）と大半を占めている。全国約 500 箇所の基幹定点となっている病院からのインフルエンザによる 2013 年第 5 週までの累積入院報告数は 3,166 人であった。60 歳以上の入院割合は 42.9%であり、2012/2013 シーズンの同時期の報告割合（58.7%）を大きく下回っているのは、高齢者の受診者数の割合の減少と一致している。入院サーベイランスについては、約 500 箇所の基幹定点病院を対象に行っていることによる制限、入院時の状況に関する調査項目の検討、同調査の目的等、検討すべき課題があると思われる。

### A. 研究目的

国立感染症研究所感染症疫学センターでは、1999 年 4 月より全国約 5000 箇所のインフルエンザ定点医療機関（小児科定点約 3,000、内科定点約 2,000）より週毎のインフルエンザの発

生状況が都道府県、政令市を通じて報告され、そのデータ集計を行い、シーズン毎のインフルエンザの発生動向の解析を行っている。急性脳炎は 2003 年 11 月に 4 類定点把握疾患から 5 類全数把握疾患に変更となり、2004 年 3 月からは

インフルエンザ脳症も同疾患による届出対象となった。また、2012年9月からは、インフルエンザに起因した入院症例数について、全国約500箇所の基幹定点となっている病院からの報告（入院サーベイランス）が始まっている。

2009/2010シーズン、2010/2011シーズンの2シーズンは、2009年に発生した新型インフルエンザ《インフルエンザA(H1N1)pdm2009、以下A/H1N1pdmという。》が日本国内ではインフルエンザの流行の中心となった。次いで2011/2012シーズン、2012/2013シーズンの2シーズンはインフルエンザA/H3N2亜型（以下、A/H3N2という。）が流行の中心となった。

本稿では、2013/2014シーズンのインフルエンザの流行状況とインフルエンザ脳症の報告（急性脳炎の報告例のうち原因がインフルエンザとされているもの）および2012/2013シーズンから始まったインフルエンザの入院サーベイランスについて、主に2014年第6週までの集計と解析結果の報告と考察を行う。

## B. 研究方法

全国約5000箇所のインフルエンザ定点医療機関（小児科定点約3,000、内科定点約2,000）より都道府県、政令市を通じて毎週のインフルエンザの発生状況が報告されており、感染症疫学センターでデータを集計している。そのデータを活用して、2013/2014シーズン（2014年第6週まで）のインフルエンザの発生動向の分析を行った。また、全国の地方衛生研究所及び検疫所から送られてくる病原体検出結果の中のインフルエンザウイルス分離報告についての集計・解析を行った。

インフルエンザ脳症に関しては、2013/2014シーズン（2014年第6週まで）に全国の医療機関から5類全数把握疾患として都道府県、政令市を通じて送られてくる急性脳炎の報告例のうち、インフルエンザを原因として届けられたもののみを抽出して集計・解析を行った。

インフルエンザに関連する入院例については、2013/2014シーズン（2014年第5週まで）に全国の基幹定点から報告されたデータを集計し解析を行った。

## C. 研究結果

### 1) 2013/2014シーズンのインフルエンザの発生動向（暫定値）について：

感染症発生動向調査では、全国約5,000箇所（小児科定点約3,000、内科定点約2,000）のインフルエンザ定点からの報告に基づいてインフルエンザの発生動向を分析している。インフルエンザの定点当たり報告数は2013年第43週以降継続的に増加し、第51週に全国的な流行開始の指標である1.00を上回って1.39となった。2014年になるとインフルエンザの定点当たり報告数は急増し、2014年第5週には34.44（患者報告数170,403）と今シーズンの最高値となり、翌第6週には2013年第43週以降16週間ぶりに減少して30.72（患者報告数151,829）となった（図1）。

2013/2014シーズンのインフルエンザの流行のピークであった2014年第5週の都道府県別の定点当たり報告数は、沖縄県（68.98）、大分県（60.03）、宮崎県（56.08）、神奈川県（47.96）、埼玉県（47.87）、福岡県（45.57）、佐賀県（45.05）、長野県（44.66）、滋賀県（44.53）、千葉県（42.47）の順となっており、九州地方や首都圏で高い地域が多かった。インフルエンザの流行のピーク（第5週）は過ぎたが、まだしばらく流行は継続するものと思われる。

2014年第5週の推計患者数は約187万人（95%信頼区間：172万人～202万人）であり、2013年第36週～2014年第5週までの累積の推計受診患者数は462万人（95%信頼区間：442～482万人）であった。性別では男性236万人（95%信頼区間：225万人～246万人）、女性226万人（95%信頼区間：217万人～234万人）、年齢群別では5～9歳約95万人、30代約62万人、0～4

歳約 60 万人、10～14 歳約 56 万人、40 代約 51 万人、20 代約 44 万人、50 代約 30 万人の順であった（図 2）。第 5 週までの推計受診患者数の累積のうち、14 歳以下の年齢群の割合を過去 2 シーズンと比べてみると、2011/2012 シーズンは 58.2%、2012/2013 シーズンは 37.1%、2013/2014 シーズンでは 46.2%であった。また、60 歳以上の高齢者の割合は 2011/2012 シーズンは 7.8%、2012/2013 シーズンは 11.7%、2013/2014 シーズンでは 7.8%であった。

2013 年第 36～2014 年第 5 週までに国内では 1,482 検体のインフルエンザウイルスの検出が報告されており、A/H1N1pdm が 591 件（39.9%）、A/H3N2 が 538 件（36.3%）、B 型 353 件（23.8%）となっており（図 3）、12 月までは A/H3N2 が多かったが、本格的な流行となった 1 月以降は A/H1N1pdm が最多となっている。

## 2) 感染症発生動向調査による 2013/2014 シーズンのインフルエンザ脳症の報告について（暫定値）：

感染症発生動向調査では、インフルエンザ脳症は、感染症法に基づく五類感染症の全数届出疾患である急性脳炎に含まれるものとして、診断したすべての医師に診断から 7 日以内に届け出ることが義務づけられている。（急性脳炎の届出基準：<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-05-03.html>）。この報告は、2004 年 3 月から開始されている。

2014 年第 6 週現在、2013 年第 36 週～2014 年第 6 週の期間中に感染症発生動向調査に急性脳炎として報告があり、その原因がインフルエンザによるものとされたのは 33 人（年齢 1～84 歳、年齢中央値 7 歳）であった（表 1）。2013 年第 46 週に 1 例の報告があり、その後はインフルエンザの報告数の増加に伴ってインフルエンザ脳症も継続的に報告されており、2014 年第 4 週に 9 人と最多の報告数となったが、第 5 週、

第 6 週の報告数は今後さらに増加するものと予想される（図 4）。

男性 20 人（60.6%）、女性 13 人（39.4%）であり、年齢別では小児では 3 歳児、5 歳児、7 歳児がともに 5 人（15.2%）で最多であり、次いで 1 歳児 3 人（9.1%）、13 歳 2 人（6.1%）の順であり、13 歳以下が 25 人（75.8%）と多くを占めている一方で、60 歳以上が 4 人（12.1%）であった（図 5）。ウイルスの型別では A 型 21 人（63.6%）、うち AH1pdm09 が 4 人、AH3N2 が 1 人、亜型不明 16 人）、B 型 10 人（30.3%）、型別不明 2 人（6.1%）となっており、2013/2014 シーズンの流行を反映して A 型が多数を占めている（図 6）。

## 3) インフルエンザの入院サーベイランスの解析結果について（暫定値）：

全国約 500 箇所の基幹定点となっている病院からのインフルエンザによる入院例の報告数は、2014 年第 5 週が 1,016 人と 2013/2014 シーズンでは最も多く、2013 年第 36 週以降第 5 週までの累積報告数は 3,166 人となった。累積報告数の年齢群別内訳は、0～4 歳 835 人（26.4%）、80 歳以上 606 人（19.1%）、70 代 466 人（14.7%）、5～9 歳 388 人（12.3%）、60 代 286 人（9.0%）の順であった。2012/2013 シーズンの同時期では 60 歳以上の割合が 58.6%と過半数を占めていたが、2013/2014 シーズンは 42.9%と半数以下であり、9 歳以下の割合が 38.6%と 2012/2013 シーズンの同時期の 26.5%を大きく上回っている（図 7）。

入院時の状況については ICU 入室 148 人、人工呼吸器装着 105 人、頭部の検査（CT 検査、脳波、MRI 検査）348 人（一部重複あり）となっているが、これらのいずれにも該当しない例が 2,688 人（81.7%）と大半を占めている（図 8）。

## D. 考察

本報告は 2013/2014 シーズンのインフルエンザの流行のピーク（2013 年第 5 週）に近い 2013

年第 6 週までの発生動向調査結果を 2014 年 2 月 10 日現在の集計値をもとにまとめたものであり、遅れ報告も含めて今後さらに報告数が増加することが予想されることから、数についてはあくまでも暫定値である。

2013/2014 シーズンは、A/H3N2 亜型が流行の中心であった過去 2 シーズンとは異なって、A/H1N1pdm が最多となる可能性が高い。今シーズンの流行の特徴としては、流行のピーク時の定点当たり報告数の値が過去 2 シーズンを下回っており、同時期までの累積の推計受診者数（2011/2012 シーズンは約 609 万人、2012/2013 シーズンは 726 万人）を大きく下回っている。累積の推計受診者数に占める小児の割合は 2011/2012 シーズンよりも低かったものの、2012/2013 シーズンよりは高かった。一方でその前の A/H1N1pdm が流行の中心となった 2010/2011 シーズンとほぼ同等であった。また、60 歳以上の高齢者の占める割合は 2011/2012 シーズンとほぼ同等であり、2012/2013 シーズンよりも大幅に少なかった。各流行シーズンにおいて、インフルエンザの発症者数が最も多いのは 5~9 歳の年齢群であり、小児が流行の中心であることには変わりはないが、各年齢群の推計患者数の割合がシーズンごとに変化するの、流行ウイルスの抗原に対する各年齢群の抗体保有率や、そのシーズンの流行規模等にも関連している可能性があるが、今後も検討を重ねていく必要がある。

2013/2014 シーズンのインフルエンザ脳症の報告数は 2014 年第 6 週までに 33 人であるが、これも途中経過で集計した暫定値であり、遅れ報告も含めて今後さらに増加していくものと思われる。2012/2013 シーズンは、高齢者での患者発生割合が高かったことを反映して、インフルエンザ脳症の割合も 60 歳以上の割合が 21.2%（7 人）と高かったが、2013/2014 シーズンは 12.1%（4 人）と大きく減少し、13 歳以下の小児の割合が大半を占めている。ただし、今後 B 型

インフルエンザの患者発生割合が増加していくに伴い、インフルエンザ脳症の年齢構成も変化していく可能性があるため、注意深く観察していく必要がある。

入院サーベイランスは、全国約 500 箇所の基幹定点となっている限られた入院医療機関からの報告ではあるものの、60 歳以上の入院割合は 42.9%であり、2012/2013 シーズンの同時期の報告割合（58.7%）を大きく下回っているのは、高齢者の推計受診者数の割合の減少を反映しているものと思われる。なお、推計受診患者数の中に占める 60 歳以上の割合に比して、入院患者数に占める同年齢群の割合が大幅に高い傾向については変わりはない。入院時の状況については、調査項目が ICU 入室、人工呼吸器装着、頭部検査（CT 検査、脳波、MRI 検査）の 3 項目のみであり、実際にはいずれにも該当しない例が大半を占めており、残念ながら入院例の重症度や肺炎、意識障害等の有無等の有用な解析には不十分と考えざるを得ない。入院サーベイランスについては、約 500 箇所の基幹定点病院を対象に行っていることや、入院時の状況に関する調査項目、あるいは本調査の目的等、今一度再検討すべき課題があると思われる。これについては、サーベイランスの研究班で検討が行われる予定である。

## E. 結論

- ・ 2013/2014 シーズンのインフルエンザの流行は、2014 年第 5 週にインフルエンザの定点当たり報告数が 34.44 となり、今シーズンの最高値となった

- ・ 累積の推計受診患者数は 462 万人（95%信頼区間：442~482 万人）であり、過去 2 シーズンの同時期の累積の推計受診患者数よりも少なかった

- ・ 2013/2014 シーズンは 2014 年第 5 週までに国内では 1,482 検体のインフルエンザウイルスの検出が報告されており、本格的な流行となった

1月以降はA/H1N1pdmが最多となっている

- ・インフルエンザ脳症の報告数は2014年第6週までに33人(暫定値)が報告されており、13歳以下の小児が25人(75.8%)と大半を占めている

- ・全国約500箇所の基幹定点となっている病院からのインフルエンザによる入院例の報告は、2013年第5週までの累積で3,166人(暫定値)であった

- ・60歳以上の入院割合は42.9%であり、2012/2013シーズンの同時期の報告割合(58.7%)を大きく下回っていた

- ・入院サーベイランスについては、入院時の状況に関する調査項目、あるいは同調査の目的等、今一度再検討すべき課題があると思われる

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### 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

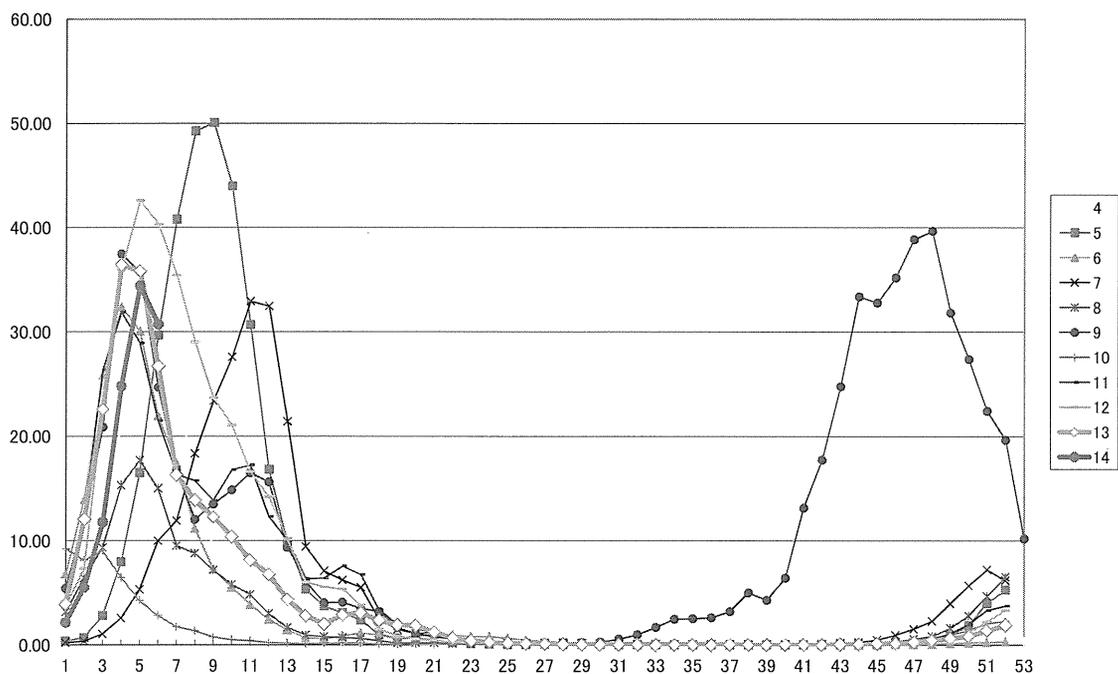


図 1. 2004～2014 年第 6 週インフルエンザ定点当たり報告数週別推移（暫定値）

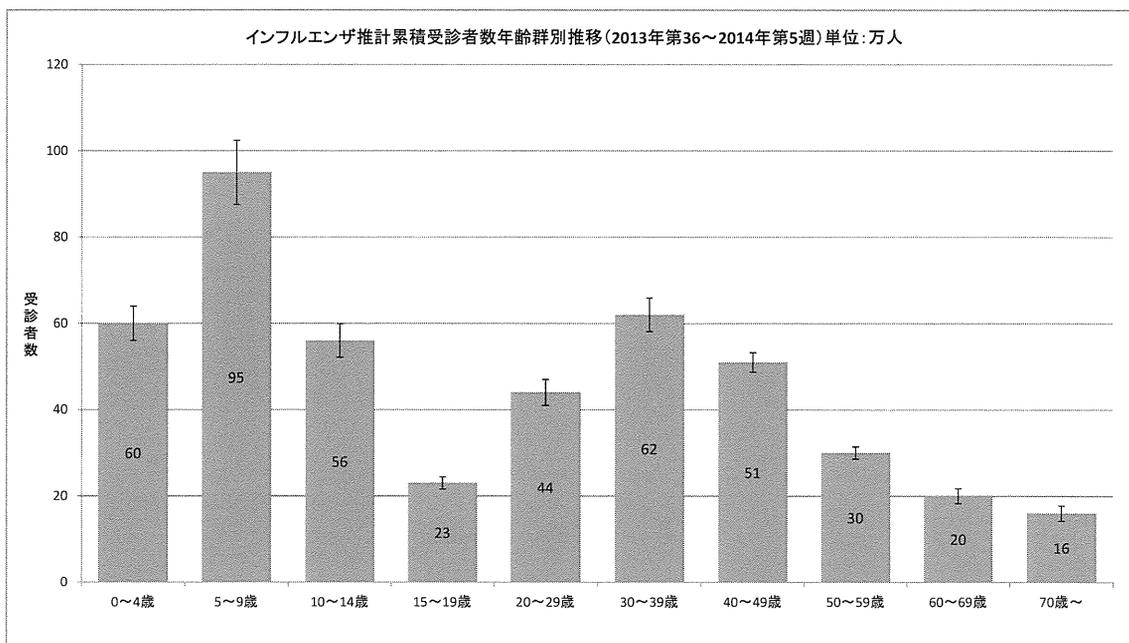


図 2. 年齢群別インフルエンザ累積推計受診患者数（暫定値）（2013 年第 36 週～2014 年第 5 週：各年齢群の 95%信頼区間をグラフに示す）

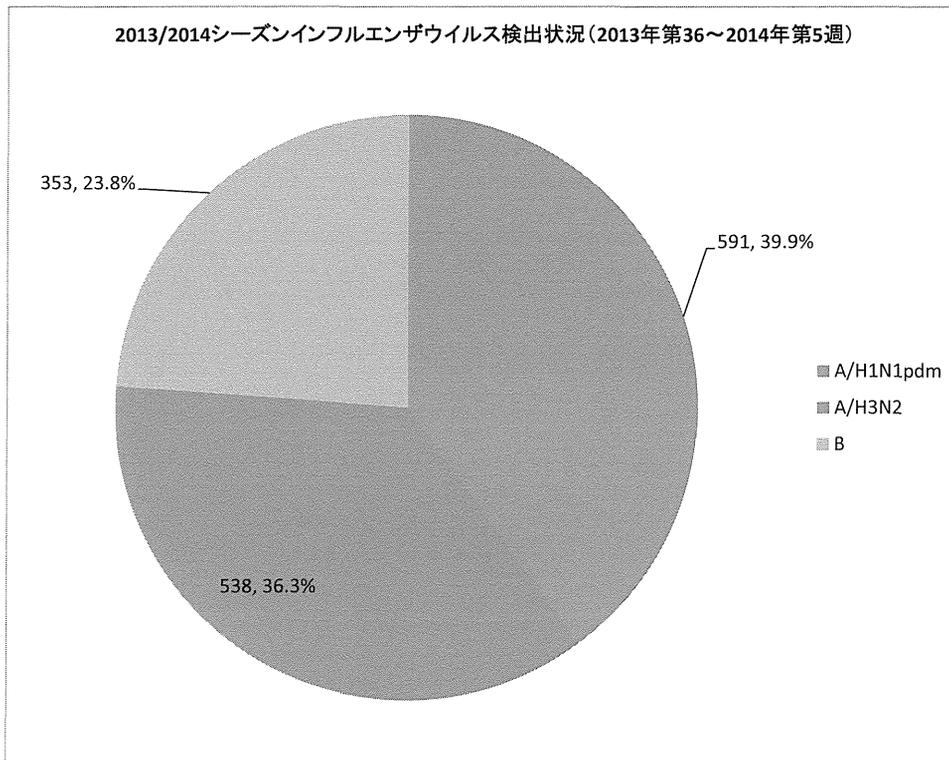


図 3. 2013/2014 シーズンインフルエンザウイルス検出状況 (2013 年第 36 週~2014 年第 5 週 ; 総検出数-1,482) (暫定値)

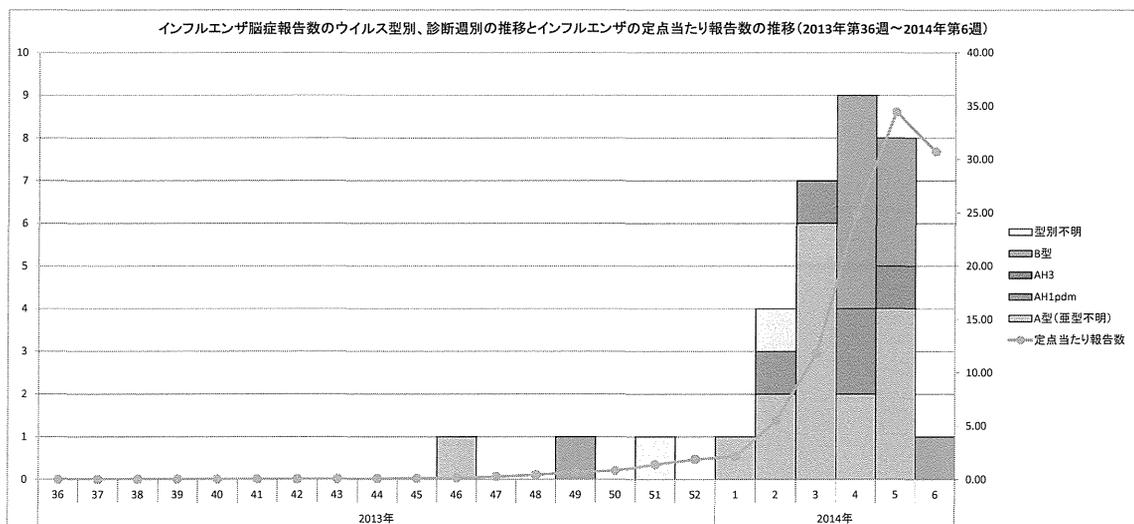


図 4. 2013/2014 シーズンインフルエンザ脳症報告数およびインフルエンザ定点あたり報告数週別推移 (インフルエンザ脳症累積報告数=33) (暫定値)

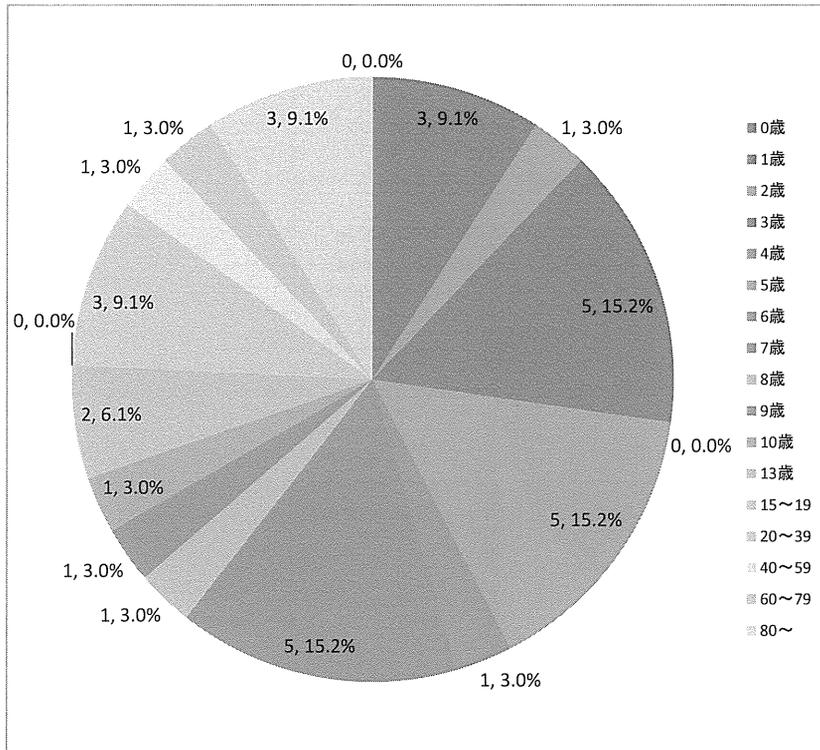


図 5. 2013/2014 シーズンインフルエンザ脳症発生報告年齢別グラフ（暫定値）

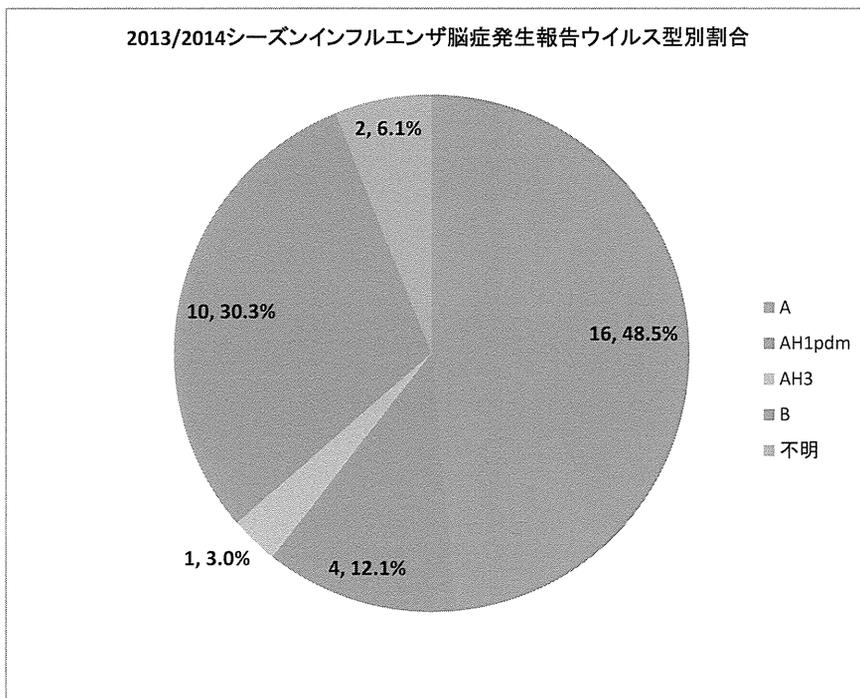


図 6. 2013/2014 シーズンインフルエンザ脳症発生報告数のウイルス型別割合（暫定値）

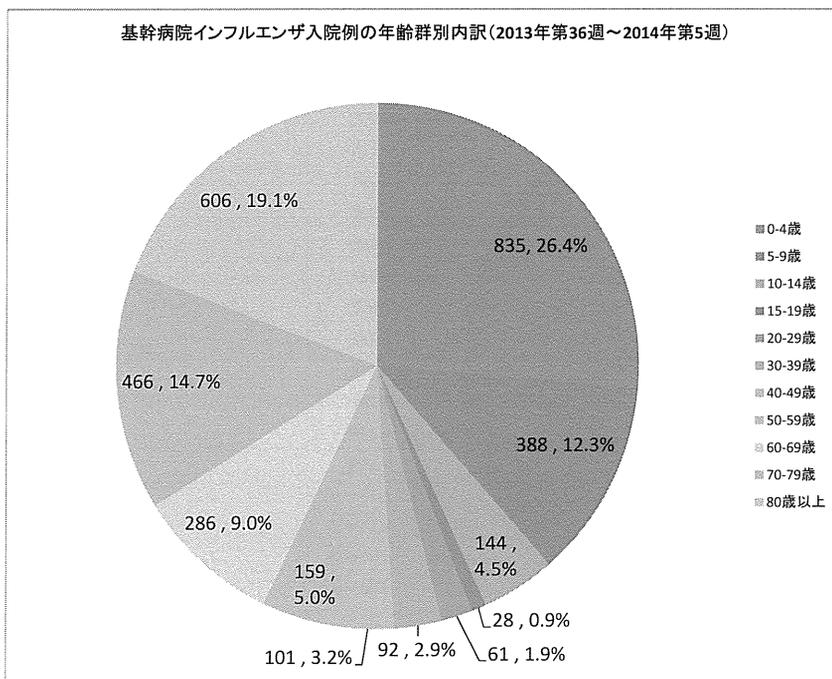


図 7. インフルエンザ入院患者の累積報告数の年齢群別割合（基幹定点からの報告）  
（2013年第36～2014年第5週、累積報告数3,166）（暫定値）

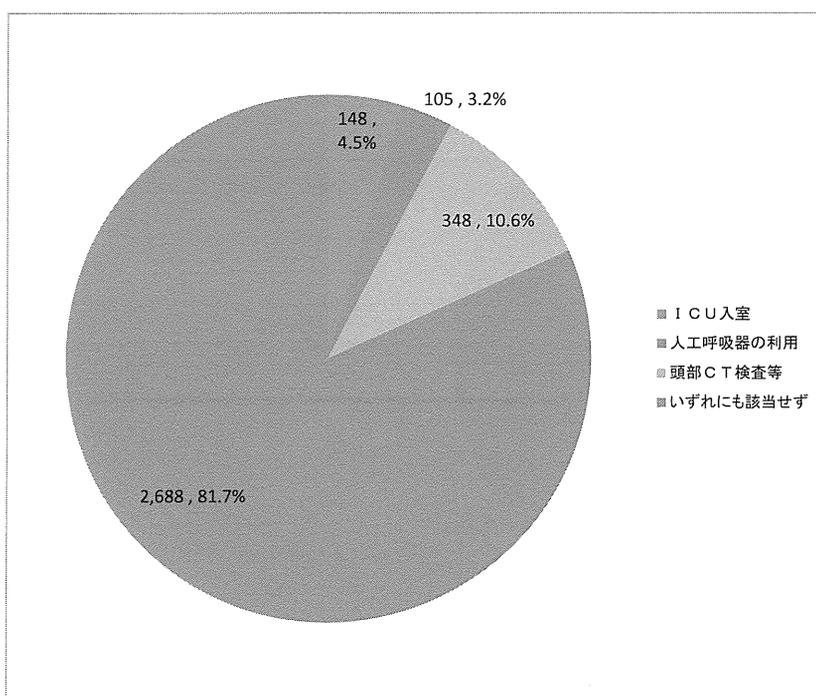


図 8. インフルエンザ入院患者の累積報告数の入院時の状況別割合（基幹定点からの報告、一部重複あり）  
（2013年第36～2014年第5週）（暫定値）