

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2023

課題番号：19K24160

研究課題名（和文）フィリピン小児出生コホートにおける急性呼吸器感染症病原体の経時的かつ網羅的解析

研究課題名（英文）Chronological, comprehensive analysis of acute respiratory pathogens among a birth cohort children in the Philippines

研究代表者

今村 剛朗（Imamura, Takeaki）

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：60849412

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：新型コロナウイルス感染症(COVID-19)パンデミックにより感染症研究や公衆衛生対策は大きな制限を受けたため、本研究は当初の計画からの変更を余儀なくされた。過去の小児急性呼吸器感染症コホート研究で採取した上気道検体を用いて、RSウイルス量と臨床症状との関連性を解析した。また、インフルエンザA (IAV) H3N2亜型の分子生物学的解析を実施し、2014-2019年の間に複数のIAV H3N2株がフィリピン共和国ビラン島に流入していたことを明らかにし、流入ウイルス株の島内での流行期間や関連するアミノ酸変異について明らかにした。さらに、ビラン島で小児急性呼吸器感染症コホート研究を再開した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性呼吸器感染症は、途上国の小児死亡の主原因である。小児急性呼吸器感染症コホート研究を再開したことで、フィリピンにおける小児急性呼吸器感染症の原因をモニタリングし、流行株の把握および発病率や臨床症状の変化を解析することが可能となった。RSウイルスと臨床症状との関連性や、インフルエンザA H3N2亜型の流行様式を明らかにしたことで、リスク評価やモニタリング体制の最適化、ワクチン戦略に資することができた。RSウイルスやインフルエンザウイルスなどの呼吸器ウイルスは、小児のみならず高齢者でも健康被害をきたす。したがって、ウイルス別の流行特性を解明することは公衆衛生対策上の意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The novel coronavirus infection (COVID-19) pandemic has severely limited infectious disease research and public health measures, forcing a change from the original plan for this study. Nasopharyngeal and oropharyngeal samples collected in a previous pediatric acute respiratory infection cohort study were used to analyze the association between RS virus levels and clinical symptoms. We also performed molecular biological analysis of influenza A (IAV) H3N2 subtypes to identify the introduction of multiple IAV H3N2 strains to Biliran Island, the Philippines, from 2014 to 2019. We also determined the period of local persistence following each introduction event and the associated amino acid mutations. Furthermore, we reestablished a pediatric acute respiratory tract infection cohort study on Biliran Island.

研究分野：ウイルス学

キーワード：急性呼吸器感染症 インフルエンザ RSウイルス コホート研究

1. 研究開始当初の背景

急性呼吸器感染症は小児において臨床的に一般的かつ重要な疾患であり、また発展途上国では小児死亡の主要原因である。急性呼吸器感染症に關与する病原体を把握し臨床像を解明することで、小児急性呼吸器感染症の診療や予防に寄与することが出来る。分子生物学的手法により、臨床検体から多くのウイルスや細菌を高い感度で検出できるようになったが、検出された呼吸器系病原体の定着・不顕性感染・顕性感染の判別、複数病原体のマイクロバイームとしての意義、急性呼吸器感染症重症化との関連性など、検出病原体が有する臨床的意義の解明は未だ十分ではない。

そこで当初は、フィリピンにおいて小児出生コホート研究を実施し、小児急性呼吸器感染症に關与する病原体の網羅的検出及び臨床的意義の解明を目的として疫学的解析を行う計画であった。しかし、2019年12月末に探知された新型コロナウイルス感染症(COVID-19)によるパンデミックのため、COVID-19以外の感染症研究や公衆衛生対策は大きな制限を受けた。フィリピン共和国でも、長期間のロックダウンが実施されて渡航や新規研究活動の開始が困難となり、また共同研究者であるフィリピン熱帯医学研究所(Research Institute of Tropical Medicine, RITM)の主たる業務が COVID-19 対策となったために COVID-19 以外の研究活動が大きく制限された。

そのような情勢変化を受けて、小児における急性呼吸器感染症コホート研究の再開を目指しつつ、既存検体を用いた小児急性呼吸器感染症に關与する病原体の網羅的解析を実施することとした。当研究室には、COVID-19以前にフィリピン共和国で実施した小児急性呼吸器感染症に關する研究で収集した上気道検体が保管されている。それらの検体を用いて、ウイルスと細菌を主たる標的とした小児急性呼吸器感染症に關与する病原体の網羅的解析を行うこととした。また、COVID-19 パンデミックにより複数病原体を検出可能な PCR 診断機器が一般病院でも広く使用されるようになり、今まで検出されなかった呼吸器系ウイルス感染が探知可能となった。それにより、呼吸器系ウイルスが成人の重症急性呼吸器感染症を引き起こしたと考えられる症例の報告が増加した。そのため、病原体の網羅的解析対象にはフィリピン共和国の成人から採取した検体も含めることとした。

2. 研究の目的

本研究は、急性呼吸器感染症の原因と考えられる病原体を網羅的に検出し、それらの病原体が有する臨床的意義の推定を試みることを目的とする。

そのために、下記項目を実施することとした。

- (1) 過去小児急性呼吸器感染症コホート研究で採取した上気道検体を用いた、RSウイルス量と酸素飽和度(SpO₂)および他の臨床症状との関連性の解析
- (2) 過去小児急性呼吸器感染症コホート研究で採取した上気道検体を用いた、インフルエンザ A(IAV)H3N2 亜型の流行様式に關する分子生物学的解析
- (3) 過去 RSウイルス(RSV)感染伝播コホート研究で経時的に採取した上気道検体を用いた、呼吸器病原体の網羅的検出
- (4) 小児急性呼吸器感染症コホート研究の再開

3. 研究の方法

(1) 過去小児急性呼吸器感染症コホート研究で採取した上気道検体を用いた、RS ウイルス量と SpO₂ および他の臨床症状との関連性の解析

2014–2015 年の間にフィリピン共和国内の 3 病院を受診し急性呼吸器感染と診断された 1 歳未満の小児から、鼻咽頭拭い液を採取し、RS ウイルスを同定し、リアルタイム PCR 法によるサイクル値(Ct 値)を用いてウイルス量を定量した。受診時の診察初見から収集した SpO₂ および他の臨床症状データと RS ウイルス量との相関、および WHO Integrated Management of Childhood Illness (IMCI)診断区分と RS ウイルス量との関連性を解析した。

(2) 過去小児急性呼吸器感染症コホート研究で採取した上気道検体を用いた、IAV(H3N2)の流行様式に関する分子生物学的解析

2014–2019 年の間にフィリピン共和国ピラン島における小児急性期呼吸器感染症コホート研究で採取した口腔/鼻咽頭拭い液から、IAV(H3N2)を同定し、150 検体に関して HA1 遺伝子配列を Sanger 法で同定した。また、同時期に Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID)に登録された全世界の IAV(H3N2) HA1 遺伝子配列を取得した。それらの配列を用いて、time-scaled-phylogenetic-tree および haplotype 解析を実施し、IAV(H3N2)のピラン島への流入イベントおよびピラン島での維持期間について解析した。

(3) 過去 RSV 感染伝播コホート研究で経時的に採取した上気道検体を用いた、呼吸器病原体の網羅的検出

2017–2019 年に実施した家族内 RSV 感染伝播コホート研究で、経時的に鼻咽頭拭い液を採取した。これらを用いて下記の解析を行う。

次世代シーケンシング(NGS)で網羅的に病原体検出を行う

遺伝子配列解析で肺炎球菌血清型を同定し、RSV 感染前後での変化有無を検出する

(4) 小児急性呼吸器感染症コホート研究の再開

COVID-19 パンデミックにより中断していたフィリピン共和国ピラン島での小児急性期呼吸器感染症コホート研究の再開のために、新たな倫理審査申請などを行った。

4. 研究成果

急性呼吸器感染症は小児において臨床的に一般的かつ重要な疾患であり、また発展途上国では小児死亡の主原因であるが、患者の上気道検体から検出される病原体の臨床的意義や、病原体の流行パターンに関しては不明な点も多い。本研究は、小児急性呼吸器感染症に關与する病原体の網羅的検出及び臨床的意義の解明を目的として、当初はフィリピン共和国において新たな小児出生コホート研究を実施する計画だった。しかし、2019 年 12 月末に探知された新型コロナウイルス感染症(COVID-19)によるパンデミックのため、COVID-19 以外の感染症研究や公衆衛生対策は大きな制限を受けた。

そこで、(1)過去小児急性呼吸器感染症コホート研究で採取した上気道検体を用いた、RS ウイルス量と SpO₂ および他の臨床症状との関連性の解析、(2)過去小児急性呼吸器感染症コホート研究で採取した上気道検体を用いたインフルエンザ A(IAV)H3N2 亜型の流行様式に関する分子生物学的解析、(3)過去 RS ウイルス(RSV)感染伝播コホート研究で経時的に採取した上気道検体を用いた呼吸器病原体の検出、(4)小児急性呼吸器感染症コホート研究の再開、を実施することとした。

(1)については、2014-2015 年の間に、フィリピン共和国の 3 病院を受診して急性呼吸器感染症と診

断され、鼻咽頭拭い液から RS ウイルスが検出された 1 歳未満の小児 241 人を対象として解析を行った。月齢、性別、SpO₂ や呼吸回数・体温などのバイタルサイン、RS ウイルス遺伝子型、他の呼吸器系ウイルスとの同時検出有無と RS ウイルス量との間には相関はなかった。一方で、WHO IMCI 区分で最重症(very severe)に分類された小児での RS ウイルス量は、重症(severe)に分類された小児での RS ウイルス量に比して、ウイルス量が有意に多かった。

(2)については、2014-2019 年の間に、複数の IAV H3N2 株がフィリピン共和国ピラン島に流入していたことを明らかにし、流入したウイルス株がその後ピラン島内で流行していた期間、およびその間に獲得した塩基/アミノ酸変異の有無についても解析した。解析結果は第 70 回日本ウイルス学会で発表し、現在学術雑誌への投稿を準備中である。

(3)については、2017-2019 年の間に採取された計 3,983 検体について次世代シーケンシングを用いた網羅的病原体検出と、肺炎球菌を標的とした Sanger 法による遺伝子配列同定を行うべく新たな倫理委員会の承認を取得した。

(4)については、フィリピン共和国熱帯医学研究所、東北大学での倫理委員会の承認を経て、フィリピン共和国ピラン島での小児急性期呼吸器感染症コホート研究を再開した。

[論文]

1. Potential underestimation of influenza virus burden in infants.
Imamura, T., Saito, M., Oshitani, H.
Lancet Child Adolesc Health. 2019. pii: S2352-4642(19)30278-0.

[学会発表]

1. The role of local persistence and global dissemination in the transmission of influenza A/H3N2 in Biliran Island, Philippines, from 2014-2019.
Azam, S., Okamoto, M., Imamura, T., Sayama, Y., Saito, M., Dapat, C., Saito-Obata, M., Tamaki, R., Lupisan, S.P., Quiambao, B.P., Oshitani, H.
第 70 回日本ウイルス学会. 2023 年 9 月 26 日
2. Association between viral load and clinical presentation in pediatric RSV infection.
Imamura, T., Okamoto, M., Oshitani, H.
Asia Infectious Disease Project Joint Symposium. 2019 年 10 月 8 日
3. Association between viral load and clinical presentation in pediatric RSV infection.
Imamura, T., Okamoto, M., Oshitani, H.
Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2019. 2019 年 9 月 5 日

[図書]

1. オルソミクソウイルス科 人獣共通感染症としてのインフルエンザと新たなパンデミックの可能性
今村剛朗, 押谷仁.
臨床と微生物. 50 巻 4 号. 2023 年 7 月.
2. Global Strategy for Influenza Viral Infection: What Is the Latest Information from WHO?
Imamura, T., Oshitani, H.
Influenza Advances in Diagnosis and Management. Springer. 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Imamura Takeaki, Saito Mayuko, Oshitani Hitoshi	4. 巻 3
2. 論文標題 Potential underestimation of influenza virus burden in infants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Lancet Child & Adolescent Health	6. 最初と最後の頁 751 ~ 752
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/S2352-4642(19)30278-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takeaki Imamura, Michiko Okamoto, Hitoshi Oshitani
2. 発表標題 Association between viral load and clinical presentation in pediatric RSV infection
3. 学会等名 Asia Infectious Disease Project Joint Symposium（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeaki Imamura, Michiko Okamoto, Hitoshi Oshitani
2. 発表標題 Association between viral load and clinical presentation in pediatric RSV infection
3. 学会等名 Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sikandar Azam, Takeaki Imamura, Michiko Okamoto, Yusuke Sayama, Mayuko Saito, Clyde Dapat, Mariko Saito-Obata, Raita Tamaki, Christina Dahlia Joboco, Edelwisa Segubre Mercado, Socorro Lupisan, Beatriz P Quiambao, Hitoshi Oshitani
2. 発表標題 The role of local persistence and global dissemination in the transmission of influenza A/H3N2 in Biliran Island, Philippines, from 2014-2019.
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Takeaki Imamura, Hitoshi Oshitani	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 9
3. 書名 Global Strategy for Influenza Viral Infection: What Is the Latest Information from WHO?	

1. 著者名 今村剛朗, 押谷仁	4. 発行年 2023年
2. 出版社 近代出版	5. 総ページ数 10
3. 書名 臨床と微生物: オルソミクスウイルス科 人獣共通感染症としてのインフルエンザと新たなパンデミックの可能性	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
フィリピン	Research Institute for Tropical Medicine		