

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K05950

研究課題名(和文) 水環境中の市販医薬品を分子指標とした季節性インフルエンザの早期流行予測技術の開発

研究課題名(英文) Development of early epidemic prediction technology for seasonal influenza outbreak using over-the-counter drugs in water as molecular markers

研究代表者

木口 倫 (Kiguchi, Osamu)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：70457761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：水環境中の抗インフルエンザ薬および市販医薬品類(一般医薬品・医薬部外品含む)の有効成分を化学マーカーとして、季節性インフルエンザの流行予測につなげる技術を開発するため、3か年にわたって季節性インフルエンザ流行シーズン中の調査対象流域の排水あるいは河川水中におけるこれら医薬品類の流出濃度あるいは負荷量の実態を明らかにした。また、得られた医薬品類の流出負荷量の時系列データを用い、長短期記憶(LSTM)ネットワークを活用した解析を実施した結果、季節性インフルエンザの流行状況の推移予測の可能性を示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

季節性インフルエンザ流行を早期に把握できる予測法の確立により、的確かつ迅速な予防対応や拡大阻止対策が可能になり、感染拡大の伝播を遅らせることができる。これは、国内はもとより、国外での予防対応や被害拡大阻止対策にも大いに役立つと考えられる。また、季節性インフルエンザの警報は保健所あるいは行政区域の単位で情報提供されてきたが、水系単位での流行予測情報を提供可能になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In order to develop a technology that can be used to predict the epidemic of seasonal influenza using anti-influenza drugs and over-the-counter drugs including general drugs and non-pharmaceutical health products in the aquatic environment as molecular markers, the concentration levels and effluent loads of target pharmaceuticals in the wastewaters or river waters were clarified during the seasonal influenza epidemic season for three years. In addition, the long short-term memory (LSTM) network using the time-series data of the effluent loads of target pharmaceuticals suggested possibly to predict the transition of the epidemic situation of seasonal influenza.

研究分野：環境化学，分析化学

キーワード：抗インフルエンザ薬 医薬品 水環境 流出負荷量 流行予測 時系列解析 疫学調査

1. 研究開始当初の背景

日本や欧米では、季節性インフルエンザのような感染症の公衆衛生的な早期予防対応（予防接種）や流行拡大阻止対策につなげるため、薬局での処方箋、外来や救急での受診数、学級閉鎖数等の情報源から感染症の自覚症状の情報をいち早く収集して活用する症候群サーベイランスが行われつつある。しかし、情報源となる薬局や病院（定点）数の地域差や偏りは避けられず、情報収集には今なお課題がある。このため、早期予防対応や流行拡大阻止対策を有効に進めるためには、これらの課題に左右されない情報提供の必要性が医師や公衆衛生関係者から強く要望されている。

近年、生活排水を通じて河川水中に流出した抗インフルエンザ薬の濃度推移と季節性インフルエンザ患者数とを検討し、濃度推移には3週間ほどの遅れがあるものの、患者数の経時変化との間に強い相関性が示唆された。また、抗インフルエンザ薬の服用期間と排泄時間を考慮し、季節性インフルエンザ患者発生数から河川水中での抗インフルエンザ薬の濃度予測が可能であることも報告されている。他方で、下水処理場の流入下水中の抗インフルエンザ薬の濃度から季節性インフルエンザ患者数（流行状況）が精度よく把握可能であるとの報告もなされている。しかし、これらはいずれも把握した時点での濃度や患者数であり、流行原因の究明や拡大阻止対策に役立つ患者数の推移を予測（事前把握）することは不可能である（図1）。

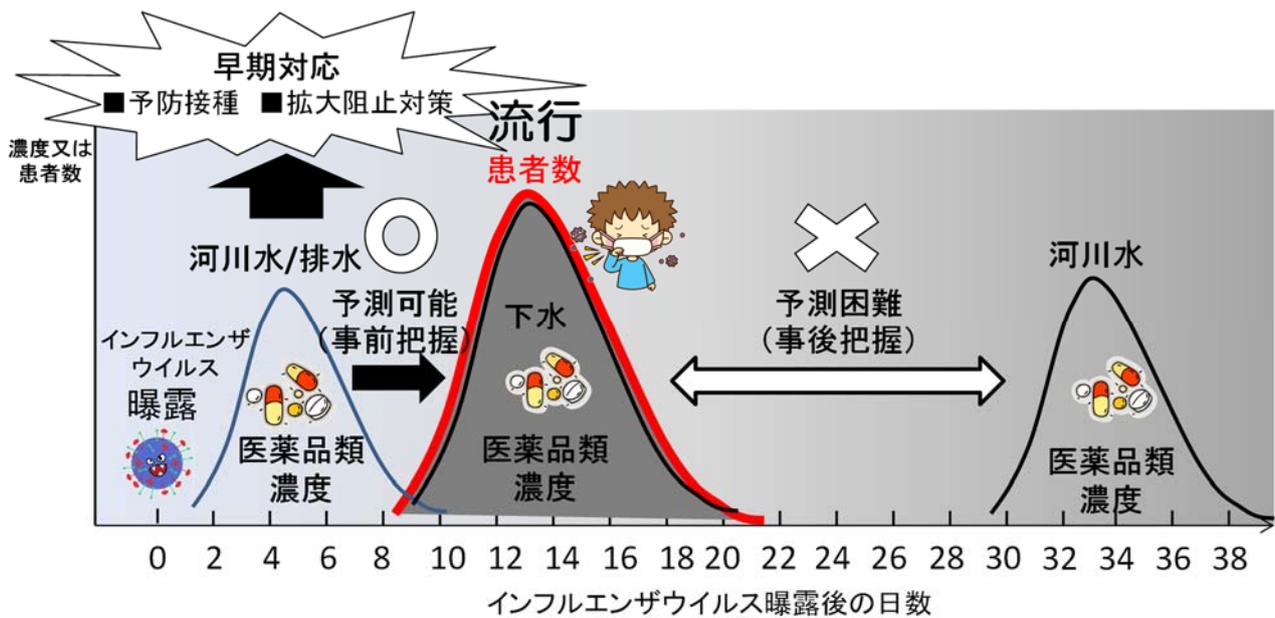


図1 季節性インフルエンザ患者発生数と水系の医薬品類の濃度推移

2. 研究の目的

本研究では、季節性インフルエンザ流行拡大阻止のため、排水あるいは河川水中の抗インフルエンザ薬および市販医薬品類（一般医薬品・医薬部外品含む）の有効成分を化学マーカーとして、その流行予測につなげる新たな発想のサーベイランス技術開発を行うことを主な目的とする。また、開発された技術を活用するため、化学マーカーの流出パターン（分布）と地理情報（GIS）とを連動させた流行状況の可視化（マップ化）を検討する。

3. 研究の方法

調査対象流域は、秋田市中心部を貫流する都市小河川の旭川下流域とした（図2）。調査地点は、河川調査では旭川下流域の本流の旭川（AR1, AR2 地点）、支流の太平川（TR1, TR2 地点）とその支流の猿田川

(SR 地点) とし、都市排水調査ではこれらの河川に接続する複数の都市排水路 (旭川 : AW1-AW4 地点, 太平川 : TW1-TW9 地点, 猿田川 : SW1-SW2 地点) とした。なお, 旭川下流域は合流式下水道区域と下水道未整備区域および浄化槽区域が混在する地域となっている。

採水は, 2017-2020 年の間に, 季節性インフルエンザの非流行期 (4-11 月) と流行期 (12-3 月) に行った。なお, 流行期の採水は概ね 1 週間間隔で行った。

調査対象物質は, 抗インフルエンザウイルス薬のタミフル (OP) とその代謝物 (OC) およびその他の医薬品類としてカフェイン (CAF), カルバマゼピン (CBZ), トリクロサン (TCS) とトリクロカルバン (TCC) とし, 分析には申請者らが開発した固相抽出-同位体希釈-LC/MS/MS 法を用いた。

本研究では, ①調査対象流域における過去 10 年間の季節性インフルエンザの流行パターンの特徴把握, ②河川水および都市排水中における調査対象物質の濃度レベルの実態把握, ③医薬品類の濃度と季節性インフルエンザの患者数推移との関係把握, ④3 か年間の抗インフルエンザ薬とその他の医薬品類の流出負荷量と季節性インフルエンザ患者数の時系列データおよび長短期記憶ネットワーク (LSTM) を用いた季節性インフルエンザの流行予測の可能性についてそれぞれ検討した。また, ④の流行予測の検討結果を踏まえたうえで, 化学マーカーの流出パターン (分布) と地理情報 (GIS) とを連動させた流行状況の可視化 (マップ化) を検討することとした。



図 2 調査対象流域と採水地点

4. 研究成果

①調査対象流域における過去 10 年間の季節性インフルエンザの流行パターンの特徴把握

調査対象流域での季節性インフルエンザ流行パターンの経年変化の特徴を明らかにするため, 秋田県感染症情報センターが公表している「インフルエンザ発生動向調査」の過去 10 年間の報告データ (2006 年-2016 年) の元データを取得し, その特徴を検討した。検討の結果, 秋田市内での季節性インフルエンザの患者数 (定点合計値) は, 平均的には当該年の第 40 週後半から第 50 週の間 (11 月下旬-12 月中旬) に最初の患者数の報告が確認された後, 翌年の第 1 週から急増し, 増減を経て第 20 週前後 (5 月下旬) までに終息するパターンを示した。一方, 定点ごとにみると患者数の増減は定点合計値のものと異なるパターンがみられ, 流域内での流行状況の推移を把握するには定点ごとの患者数の情報も重要であ

ることが示唆された。

②河川水および都市排水中における調査対象物質の濃度レベルの実態把握

1) 河川水

OP と OC は、非流行期の河川水調査（2019 年 4 月，10 月）では 4 月にのみ検出された。その検出範囲は数百 pg/L-数 ng/L であり，同年から翌年にかけての流行期の河川水調査（2019 年 12 月-2020 年 3 月）に比べるとやや低かった。これは，検討①の結果からすると，4 月は季節性インフルエンザの流行が終息に向かう時期にあたるためだと考えられる。一方，4 種の医薬品類は，季節性インフルエンザの非流行期と流行期に関わらず検出された。前年調査と同様に，4 種の医薬品類のなかで CAF が最も高く（数十-数百 ng/L），その他の医薬品は CAF に比べて 2-3 桁オーダーが低かった。また，CAF は年間を通じて検出されたが，非流行期に比べて流行期でやや高く，前年調査と類似の傾向が認められた。特に冬季に濃度レベルおよび負荷量が増加する傾向がみられたことから，使用量の増加あるいは排出源の処理レベルの低下等の影響が示唆された。

2) 都市排水

OP と OC は，季節性インフルエンザの非流行期（2019 年 4 月，10 月）にも複数の都市排水で検出された。検出レベルは，非流行期では流行期の河川水と同等か 1-2 桁オーダーが高かった（数百 pg/L-千 ng/L）。同年から翌年にかけての流行期では非流行期の検出レベルとほぼ同等か 1 桁オーダーが高かった。OC 濃度は，3 年間を通じて太平川の都市排水域で最も濃度レベルが高く（平均 38~54 ng/L），しかも OC の高濃度検出地点（ホットスポット）が他の排水域よりも複数存在していることが明らかとなった。これらの地点では，アンモニウム態窒素や硝酸態窒素の濃度が他の排水域よりも高く，OC は下流域内の汚水処理未整備区域や浄化槽排水区域から流出していることが示唆された。一方，4 種の医薬品は季節性インフルエンザの非流行期と流行期とで濃度レベル（平均値）に明瞭な差は認められなかったが，河川水に比べると同等か 1 桁オーダーが高かった。こうした特徴は前年調査でも同様であり，都市排水は旭川下流域での医薬品類のホットスポットになっていることが強く示唆された。

③医薬品類の濃度と季節性インフルエンザの患者数推移との関係把握

一例として，季節性インフルエンザ流行期間中（12-3 月）に都市排水域で検出された OC 濃度（地点平均値）と，秋田市保健所管内での週間インフルエンザ患者数（定点/人）の増減推移とを比較した（図 3）。その結果，各地点での OC 濃度の合計値（総濃度）と，インフルエンザ患者数の増減推移とは，3 か年間ともに類似の傾向を示した。このことから，都市排水中の OC 総濃度の増減推移は，旭川下流域での季節性インフルエンザの流行状況を反映しているものと推察された。排水域（AW，TW，SW）別にみると，互いの増減推移の傾向が異なる場合がみられた。これは，排水域ごとの流行状況の違いを示唆していると考えられ，都市排水中の OC の濃度分布は地域ごとの流行予測に有用な情報源になりうると推察

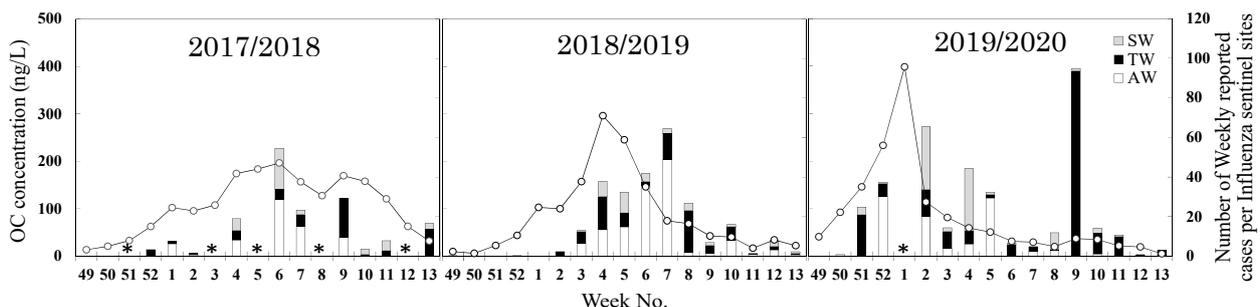


図 3 季節性インフルエンザ流行期間中（12-3 月）における都市排水中のタミフル代謝物（OC）の総濃度と秋田市の季節性インフルエンザ患者報告数の週間変化（排水域 AW：旭川，TW：太平川，SW：猿田川），*：No Data。

された。他方で、他の医薬品類の濃度推移のパターンは OP や OC とやや異なり、流行期の初週に濃度が増加する傾向がみられた。これは季節性インフルエンザ流行初期段階における潜在的な患者数を示唆するシグナルかもしれないが、現状ではその理由は不明であり、さらなる検討が必要であると考えられた。

④長短期記憶ネットワークを用いた季節性インフルエンザ流行予測の検討

3 か年間に得られた排水中の抗インフルエンザ薬と代謝物および 4 種の医薬品類の流出負荷量と秋田市の季節性インフルエンザ患者数に関する時系列データとを LSTM (Long Short-Term Memory) ネットワークを用いて解析し、季節性インフルエンザの流行状況の推移予測の可能性を検討した。

解析 (原) データは、2017-2019 年度の季節性インフルエンザ流行期 (第 49 週 - 翌年第 13 週) に得られた、秋田市旭川下流域の主要な都市排水中の OP, OC, CAF, CBZ, TCS, TCC の流出負荷量と、秋田市の季節性インフルエンザ定点から 1 週間ごとに報告された総患者数を 1 定点あたりに換算した患者数とした。流出負荷量のデータセットは、水域・年度 (3 期間) ごとの医薬品類のデータの総平均と標準偏差から標準化したものを用いた。流出負荷量の原データのうち、不検出 (ND) は 0, 調査未実施の週、期間途中から調査地点を追加あるいは中止した地点は解析対象から除外した。メタパラメータは、中間層 50 ユニット、学習回数 100 世代 (Epoch), 履歴参照数 (LB) 2, 分割比率 0.66 とし、2019 年度の 1 期間を正解データとした。

図 4 に結果を示す。Train data は世代数の増加に従って収束している一方で、OP と OC では 60 世代、4 種の医薬品では 40 世代から Test data と Train data に乖離がみられ、過学習の発生を確認した。患者数の Test data は a-2 と b-2 とともに 2019 年度の正解データとやや異なるパターンを示したが、a-2 に比べて b-2 の方が季節性インフルエンザの患者数のピークを概ね捉えており、排水中の 4 種の医薬品の流出負荷量の推移データを用いて季節性インフルエンザの流行予測の可能性が示唆された。

また、検討③の結果から、排水域ごとの流出特徴の違いが流行状況の違いを示唆していると考えられたが、季節性インフルエンザの患者数を報告している定点医療機関の流域内での配置 (分布) が一部の行政区域に偏っていることが判明し、排水域ごとに負荷量と患者数の増減との関係を検討できなかった。医薬品類の流出パターン (分布) と地理情報 (GIS) とを連動させた流行状況の可視化 (マップ化) も含めてさらに検討が必要であると考えられた。

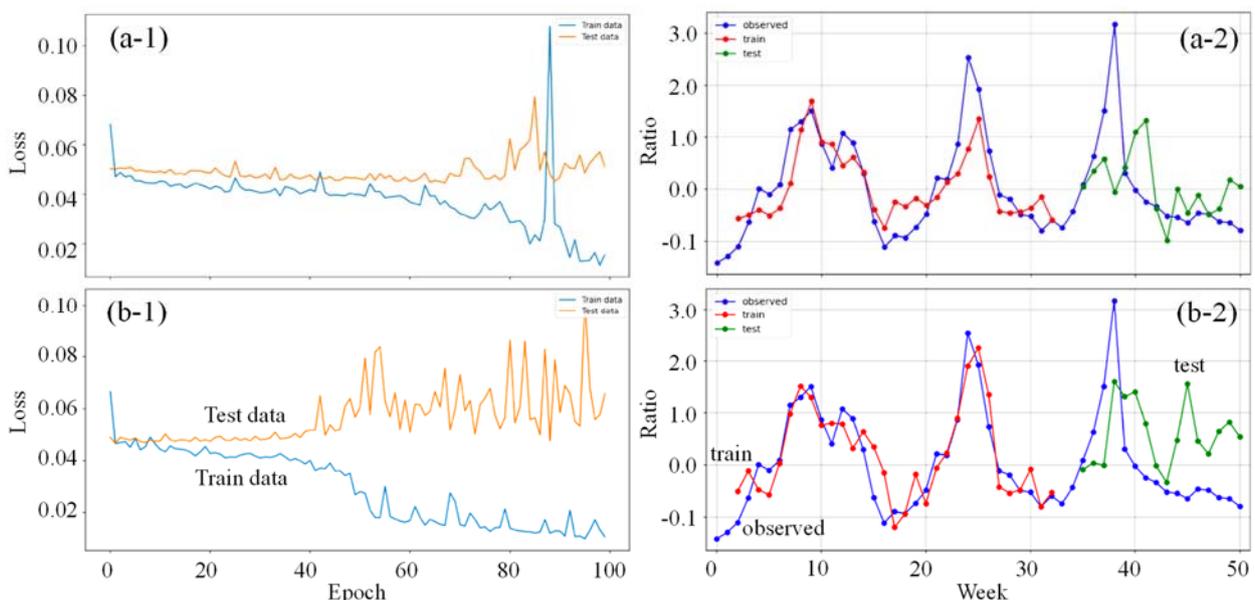


図 4 都市排水中の医薬品類の流出負荷量を用いた季節性インフルエンザ患者数の LSTM 解析の結果：学習曲線と予測値 (a) タミフルと代謝物, (b) 4 種の医薬品

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 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Osamu Kiguchi, Tomoe Ishii, Takuma Watanabe, Rokuro Konno, Akiko Matsubuchi, Takashi Kobayashi | 4. 巻 100 |
| 2. 論文標題 Determination of oseltamivir phosphate and its metabolite with other pharmaceuticals in surface waters using solid phase extraction and isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Environmental Analytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 346-360 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/03067319.2019.1637425 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 木口倫, 間所洋和, 末継淳 |
| 2. 発表標題 長短期記憶（LSTM）ネットワークを用いた季節性インフルエンザ流行予測の試み |
| 3. 学会等名 第30回環境化学討論会(環境化学物質 3 学会合同大会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 木口倫, 落合裕子, 松渕亜希子, 藤井愛実, 小林貴司 |
| 2. 発表標題 季節性インフルエンザシーズンにおける都市排水中のタミフルと代謝物及び数種のPPCPs の濃度推移 |
| 3. 学会等名 第55回日本水環境学会年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 木口倫, 落合裕子, 松渕亜希子, 藤井愛実, 小林貴司 |
| 2. 発表標題 秋田市旭川下流域におけるタミフルと代謝物及び数種のPPCPs の濃度分布と経年変化 |
| 3. 学会等名 第54回日本水環境学会年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 木口倫, 佐藤寿樹哉, 石井朋枝, 堀江好文, 今野祿朗, 藤井愛実, 小林貴司 |
| 2. 発表標題 秋田市旭川流域の都市排水路における流出水中のPPCPsの経月変化 |
| 3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 木口倫, 石井朋枝, 今野祿朗, 小林貴司 |
| 2. 発表標題 秋田市旭川下流域における河川水および都市排水中のタミフルとその代謝物および数種のPPCPsの流出 |
| 3. 学会等名 第28回環境化学討論会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 木口倫, 内田晶, 石井朋枝, 今野祿朗, 小林貴司 |
| 2. 発表標題 秋田市旭川流域における排水および河川水中のPPCPs の特徴 |
| 3. 学会等名 第52回日本水環境学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 木口倫, 石井朋枝, 今野祿朗, 小林貴司 |
| 2. 発表標題 秋田市旭川下流域における河川水および都市排水中のタミフルとその代謝物および数種のPPCPsの流出 |
| 3. 学会等名 第27 回環境化学討論会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔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 |
|-------|--|----------------------------|----|
| 研究協力者 | 小林 貴司 (Kobayashi Takashi) (10469736) | 秋田県健康環境センター (81408) | |
| 研究協力者 | 今野 禄朗 (Konno Rokuro) (20772809) | 秋田県健康環境センター (81408) | |
| 研究協力者 | 松渕 亜希子 (Matsubuchi Akiko) (80469733) | 秋田県健康環境センター (81408) | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|