

札幌市における新型インフルエンザウイルスの オセルタミビル耐性サーベイランス

菊地正幸 村椿絵美 扇谷陽子 伊藤はるみ 高橋広夫 三觜 雄

1. はじめに

2009年4月、メキシコ市やアメリカでブタ由来インフルエンザウイルス A/H1N1 亜型（以下、新型インフルエンザウイルス）のヒトからヒトへの感染が全世界に報告された。その後、世界中に感染が拡大し、6月11日にはWHOがパンデミックフェーズを最高の6へ引き上げた。

日本国内における新型インフルエンザウイルスの感染は、5月16日に神戸市において初めて確認された。札幌市においては、6月11日に市内第1例目の海外渡航歴のある感染者が初めて確認され、7月には海外渡航歴のない集団の感染が確認された。以降、新型インフルエンザの流行は拡大していった。

日本はオセルタミビル（商品名タミフル）の使用量が多く、新型インフルエンザの治療にも用いられており、オセルタミビル耐性株の発生状況を把握することは重要である。

本稿では、当所で実施した新型インフルエンザウイルス遺伝子の部分塩基配列解析によるオセルタミビル耐性の発生状況について報告する。

2. 方法

2-1 材料

2009年6月から2010年3月までの間に実施した全ての新型インフルエンザ疑似症例を対象とした全数検査、感染拡大を早期に探知するためのクラスター（集団発生）サーベイランスおよび重症者の発生動向を把握するための入院サーベイランス等において新型インフルエンザウイルスが検出された鼻

腔ぬぐい液等10検体、分離された新型インフルエンザウイルス137株および通常の定点サーベイランスにおいて分離された366株を検査材料とした。

2-2 RNA抽出

RNA抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いて、スピンプロトコールにより、または自動核酸抽出装置QIAcube（QIAGEN）を使用して行った。

2-3 オセルタミビル耐性試験

ウイルス分離株あるいは鼻腔ぬぐい液等よりウイルスRNAを抽出し、国立感染症研究所（以下、感染研）から示された「新型インフルエンザ薬耐性株サーベイランス A/H1N1pdm - NA 遺伝子解析実験プロトコール」に準じて、RT-PCRによりノイラミニダーゼ（NA）遺伝子の一部を増幅し、増幅産物の塩基配列を決定して薬剤耐性株の耐性マーカーであるNA遺伝子のH275Y変異の有無を確認した。変異が確認された分離株については、感染研で薬剤感受性試験を実施した。

3. 結果

3-1 オセルタミビル耐性試験結果

新型インフルエンザウイルスが検出された鼻腔ぬぐい液等10検体および分離株503株についてNA遺伝子の部分領域の塩基配列を決定し、NAタンパク質の275番目のアミノ酸がヒスチジンからチロシンへ変異（H275Y）しているか確認した。その結果、定点サーベイランス検体から分離された2株、定点以外の医療機関から依頼された患者検体からの分離

株1株の合計3株にNA遺伝子のH275Y変異が確認された(表1)。これらの分離株を感染研に送付して抗ウイルス薬感受性試験を実施したところ、オセルタミビルに対して感受性が著しく低下していることが確認された。一方、ザナミビル(商品名リレンザ)に対しては感受性を保持していた。また、感染研分与の家兎免疫血清(抗A/California/7/2009(H1N1)pdm)を用いたHI試験を実施した結果、これらオセルタミビル耐性株は感受性株と同様に抗原性はワクチン株であるA/California/7/2009(H1N1)pdmに類似していた。

オセルタミビル耐性株が確認された1例目は8月22日に採取された定点サーベイランス検体からの分離株であった。この患者は発熱や咳の症状があり市内医療機関を受診しザナミビルを服用していた

が、オセルタミビルは服用していなかったため、耐性株のヒト-ヒト感染が疑われた。

2例目は11月18日に採取された定点サーベイランス検体からの分離株であった。この患者の兄弟が先にインフルエンザに罹患しており、オセルタミビルが処方されていた。その後、患者が発熱を呈したためオセルタミビルを服用していた。

3例目は2010年1月19日に採取された定点ではない医療機関から依頼された検体からの分離株であり、兄弟がインフルエンザに罹患していたためオセルタミビルを予防内服していた。

いずれの事例においても、その後の調査では、患者周辺地域でオセルタミビル無効例や新型インフルエンザ患者の異常増加は確認されなかった。

表1 オセルタミビル耐性解析結果

	解析数 (ウイルス分離株)	解析数 (臨床検体)	オセルタミビル耐性
全数把握	55		
クラスターサーベイランス	24		
入院、重症サーベイランス	58	10	1
定点サーベイランス	366		2
合計	503	10	3

4. まとめ

2007年11月以降、抗インフルエンザ薬オセルタミビルに対して耐性となった季節性インフルエンザA/H1N1ウイルス株が北欧諸国を中心に高頻度に報告された。日本では、2007/2008シーズンのオセルタミビル耐性の季節性インフルエンザA/H1N1ウイルス株の出現頻度は2.6%(45/1734)と諸外国と比較して極めて少ない結果であった¹⁾。札幌市においては、53株の季節性インフルエンザA/H1N1ウイルスについて解析したが、耐性株は確認されなかった。オセルタミビル耐性株の世界的な拡大が懸念される中、2008/2009シーズンに入り、日本でも季節

性インフルエンザA/H1N1ウイルス耐性株の出現頻度が99.7%と急激に上昇する結果となった²⁾。札幌市でも同様に、解析した全ての分離株(79株)でオセルタミビル耐性を示す変異が確認された。

2009年にメキシコ、アメリカで発生した新型インフルエンザウイルスは、日本を含む世界各国に感染が広がった。札幌市においては、6月に市内第1例目の海外渡航歴のある陽性患者が、7月には市内における集団感染患者が確認された。それ以降新型インフルエンザウイルス陽性例が増加し、本格的に流行し始めたと思われる。

日本は以前からオセルタミビルの使用量が世界

的にも多く、新型インフルエンザの治療薬としてもオセルタミビルが多く使用されている。そのため、医療機関における患者の治療方針や治療効果に対して大きな影響があることから、耐性株の発生状況を把握して情報を公開・提供することが重要となる。そこで、2009年6月から2010年3月までの間に実施した全数検査、クラスターサーベイランス、入院サーベイランス等および通常の定点サーベイランスにおける検体および分離株について、NA遺伝子の部分塩基配列解析によりオセルタミビル耐性の発生状況を調査した。

513件（ウイルス分離株503株、臨床検体10検体）について解析したところ3株のオセルタミビル耐性ウイルスが確認され、発生頻度は0.58%であった。1例目はオセルタミビルを処方されていない例であり、ヒト-ヒト感染が疑われた。他の2事例はオセルタミビルを処方されており、薬剤の選択圧により散発的に耐性株が発生したと考えられた。いずれの事例においてもオセルタミビル耐性ウイルスの感染拡大は確認されなかった。

全国的には、オセルタミビル耐性の新型インフルエンザウイルス株の出現頻度は1.08%（75/6915）であるが（2010年9月1日現在）、解析された新型インフルエンザウイルス分離株の一部には、オセルタミビルによる治療効果が思わしくない事例を優先的に調べた成績も含まれていることを考慮する必要がある³⁾。いずれにせよ、オセルタミビル耐性新

型インフルエンザウイルスの出現頻度は低く、その大半が散発例であり、家族や地域へ感染は広がっていないと考えられている。

このような薬剤耐性ウイルスのサーベイランスは、従来から通年実施している感染症発生動向調査（患者発生動向と病原体サーベイランス）とともに、感染症対策に重要であり、今後も継続していくことが必要である。

5. 文 献

- 1) 国立感染症研究所ウイルス第三部第一室インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスチーム他：インフルエンザ（A/H1N1）オセルタミビル耐性株（H275Y*）の国内発生状況 [第2報]，病原微生物検出情報月報，29，334-339，2008
- 2) 国立感染症研究所ウイルス第三部第一室インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスチーム他：2008/09 インフルエンザシーズンにおけるインフルエンザ（A/H1N1）オセルタミビル耐性株（H275Y）の国内発生状況 [第2報]，病原微生物検出情報月報，30，101-106，2009
- 3) 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第一室他：新型インフルエンザ（A/H1N1pdm）オセルタミビル耐性株（H275Y）の国内発生状況 [第2報]，病原微生物検出情報月報，31，173-178，2010