

表 1

入院治療を要した成人のインフルエンザウイルス肺炎—死亡に関するリスク因子 (ロジスティック回帰分析)

	係数	標準誤差	P 値	オッズ比	95% CI
年齢	-0.06	0.023	0.016	0.95	0.91-0.99
SpO2	0.06	0.021	0.003	1.07	1.02-1.11
ステロイド治療	1.48	0.735	0.045	4.37	1.04-18.46
定数	-1.65	1.914	0.39	0.19	

表 2

ARDS 合併 48 例における死亡関連因子 (合併症および治療)

	OR (95%CI)	P 値	調整 OR (95%CI)	P 値
合併症				
DIC	1.8 (0.459-7.055)	0.494	3.437 (0.694-17.017)	0.130
基礎疾患	8.0 (0.910-70.34)	0.059	8.479 (0.932-77.124)	0.058
喘鳴	0.19 (0.466-7.316)	0.489	1.473 (0.344-6.315)	0.602
細菌性肺炎	0.944 (0.280-3.183)	1.000	0.538 (0.130-2.232)	0.393
治療				
oseltamivir	0.60 (0.174-2.060)	0.447	1.094 (0.260-4.595)	0.902
peramivir	2.99 (0.883-10.1)	0.130	1.750 (0.420-7.285)	0.442
抗菌薬	0.63 (0.053-7.40)	1.000	0.632 (0.051-7.841)	0.721
ステロイド	0.75 (0.135-4.159)	1.000	1.048 (0.167-6.584)	0.960
パルス療法	1.23 (0.374-4.045)	0.769	1.003 (0.284-3.547)	0.996
γ-グロブリン	1.13 (0.328-3.855)	1.000	1.882 (0.455-70780)	0.383
シベレスタット	0.58 (0.179-1.890)	0.390	0.921 (0.243-3.484)	0.903
ヘパリン	6.00 (1.09-32.98)	0.058	4.784 (0.831-27.532)	0.080
人工呼吸	0.26 (0.044-1.482)	0.215	0.314 (0.048-2.039)	0.225
NIPPV	0.53 (0.149-1.896)	0.366	0.271 (0.061-1.210)	0.087
血液浄化療法	2.63 (0.750-9.19)	0.209	2.816 (0.751-10.557)	0.125
ECMO	2.50 (1.748-3.576)	0.077		

表 3

パンデミック (2009-10 シーズン) とポストパンデミック (2010-11、2011-12 シーズン) の比較

シーズン	パンデミック	ポストパンデミック	P 値
患者数	59	99	
性別 男性	35 (59.3)	69 (69.7)	0.225
年齢	48 (35-59)	72 (58-79)	<0.001
ウイルス型			
H1N1pdm09	30 (50.8)	7 (7.1)	
B	0 (0)	18 (7.1)	
不明	23 (49.2)	74 (74.7)	
結果			
死亡	12 (20.3)	12 (12.1)	0.123
ICU 入室	22 (37.3)	19 (19.2)	0.015
人工呼吸	25 (42.4)	24 (25.3)	0.033
ARDS	27 (45.8)	21 (21.4)	0.002
DIC	9 (15.3)	3 (3.1)	0.011
基礎疾患			
COPD	0 (0)	16 (16.2)	0.002
喘息	11 (18.6)	12 (12.1)	0.351
糖尿病	8 (13.6)	11 (11.1)	0.801
心不全	4 (6.8)	13 (3.1)	0.291
透析	0 (0)	2 (2.0)	0.529
臨床所見			
体温	38.2 (37.4-38.8)	38.5 (37.8-39.1)	0.530
呼吸数	21.5 (18-26)	24 (20-30)	0.214
収縮血圧	110.0 (97.5-133.5)	128.0 (112.0-148.0)	0.004
拡張血圧	69.5 (62.0-80.3)	76.0 (61.0-90.0)	0.092
SpO ₂	92.0 (74.5-94.0)	88.0 (73.0-93.0)	0.125
喘鳴	20 (35.1)	24 (25.5)	0.268
細菌性肺炎	21 (35.6)	58 (59.2)	0.005
治療			
抗ウイルス薬			
oseltamivir	51 (96.2)	34 (36.6)	
zanamivir	1 (1.9)	4 (4.3)	
laninamivir	-	3 (3.2)	
peramivir	1 (1.9)	51 (54.8)	
抗菌薬	50 (84.7)	90 (91.8)	0.191
ステロイド	35 (59.3)	38 (40.0)	0.021
パルス	22 (37.3)	17 (17.9)	0.008
臨床経過			
入院までの日数	5 (2-6)	3 (1-5.25)	0.198
ウイルス薬投与までの日数	2 (1-5)	2 (1-3)	0.108
入院日数	11 (6-29.5)	13 (9-21)	0.621
血液検査			
WBC	6.9 (5.2-9.2)	7.0 (5.3-9.9)	0.170
PLT	14.8 (9.3-25)	13.4 (11.1-17.2)	0.550
Alb	3.0 (2.6-3.3)	3.0 (2.6-3.3)	0.377
LDH	481 (321-846)	347 (262.8-552.5)	0.018
AST	57 (45-108)	47.5 (30.3-75.5)	0.072
Cr	1.02 (0.8-1.36)	1.2 (0.72-2.06)	0.831
CRP	12.1 (3.1-22.7)	17.7 (10.6-30.0)	0.006
BUN	24 (15-30.5)	31.3 (17.08-44.3)	0.483

インフルエンザ心筋炎の全国臨床調査研究

研究分担者 浮村 聡 大阪医科大学内科学総合診療科 教授
研究協力者 和泉 徹 北里大学医学部 名誉教授
河上千尋 大阪医科大学小児科 助教
岸 勘太 大阪医科大学小児科 助教
玉井 浩 大阪医科大学小児科 教授

研究要旨

小児におけるインフルエンザ心筋炎の疫学を明らかにするため小児循環器の診療施設512病院を対象に過去の3シーズンにおけるインフルエンザ心筋炎の疫学調査ならびに小児科医のインフルエンザ心筋炎の意識調査を行い、286施設から回答があった。2009/2010シーズン（大流行時）の小児の心筋炎は8例（A型7例、B型1例、男性4例、女性4例、劇症型心筋炎が6例、死亡3例）、2010/2011シーズン（大流行後）は4例（A型1例、B型3例、男性1例、女性3例、劇症型心筋炎が4例、死亡1例）、2011/2012シーズンは2例（B型2例、男性1例、女性1例、劇症型心筋炎1例、死亡1例）のみであった。各シーズンの小児のべ入院患者数は各シーズンとも約30万人であった。小児のインフルエンザ心筋炎は成人よりもさらに頻度は低いがパンデミックシーズンには増加し、次のシーズンでは減少すると考えられた。また劇症型心筋炎では体外式補助循環の使用が救命に必要で、使用を躊躇すべきではないと考えられた。小児科医に対する意識調査では、成人で心筋炎診断のスクリーニングに有用な心電図検査の実施率が低いことが明らかとなった。従って大流行時の臨床家特に小児科医師への注意喚起の必要性が示唆された。

A. 研究目的

心筋炎は発症すれば重症となることが多いが発症頻度が低い。また無症候性心筋炎が多発している可能性も考えられるが、生検標本がなければ確定診断はできず疫学的に発生率は不明で心筋炎の多数例を扱った臨床研究は乏しい。心筋炎の病因ウイルスとしてはコクサッキーウイルスやアデノウイルスが多くインフルエンザの頻度は低いと考えられる。

2009年にインフルエンザパンデミックが発生し、2009-2010シーズンにおけるインフルエンザ(A/H1N1pdm2009)による死亡198例のうち13例の死因が心筋炎であり、インフルエンザの大流行時には心筋炎は重要な合併症と考えられた。通常心筋炎急性期にその原因微生物を同定できることは稀であるが、今回の大流行時のインフルエンザ心筋炎については迅速診断キットとRT-PCR法による病因診断とノイラミニダーゼ阻害薬による原因療法が確立していた。このことが他の病因による心筋炎との大きな相違点である。

本研究の目的はインフルエンザ心筋炎の観察研究を行うことで、インフルエンザ心筋炎の日本における疫学とその病像、治療法について検討し、インフルエンザ心筋炎の効果的な治療法を明らかにし、行政施策に貢献することにある。本研究は観察研究ではあるが、インフルエンザ心筋炎の過去の疫学データは乏しいことから学術的に貴重である。また本研究の結果を検討することで次のパンデミックにおけ

るインフルエンザ心筋炎の致死率低下に貢献しうるものと考えられる。

これまでに平成22年度には循環器学会と共同で行った後ろ向き研究にて15例の心筋炎症例をCirc J.に報告した。さらに前向き研究を行ったが報告がなかった。そこで平成23年度は2シーズン比較の後ろ向き研究を行った。2009/2010シーズンのインフルエンザ心筋炎(H1N1pdm2009)は25例（男性17例、女性8例、平均年齢39歳）であったのに対し、2010/2011シーズンは4例（男性1例、女性3例、平均年齢45歳）のみであり、この結果をJ Infect Chemother.に報告した。ただ小児は29例中5例のみであり、小児の心筋炎の頻度は実際に低いのか、また小児科医の心筋炎の診断に成人と異なるバイアスが存在しないのかという課題が生じた。

B. 研究方法

平成24年度は小児におけるインフルエンザ心筋炎の疫学を明らかにするため小児循環器の診療施設512病院を対象に過去の3シーズン、すなわち2009/2010シーズン（大流行時）、2010/2011シーズン（大流行後）、2011/2012シーズン（A型はH3N2が流行）におけるインフルエンザ心筋炎の疫学調査ならびに小児科医のインフルエンザ心筋炎の意識調査を行った。

またインフルエンザ心筋炎の発症機序の解明のためマウスにインフルエンザウイルスH1N1pdm2009を感染させインフルエンザ心筋炎を惹起させ、心臓超

音波検査による心機能の評価と組織学的検討を行った。

(倫理面への配慮)

本臨床調査研究は大阪医科大学での倫理委員会でも承認を得るとともに個人情報保護を行った。また感染動物実験については動物実験の委員会の承認を得るとともに感染動物実験専用の施設を用いた。

C. 研究結果

平成24年度は小児におけるインフルエンザ心筋炎の疫学調査では小児循環器の診療施設512病院中287施設から回答があった。

2009/2010シーズン(大流行時)の小児の心筋炎は8例(A型7例、B型1例、男性4例、女性4例、劇症型心筋炎が6例、死亡3例)2010/2011シーズン(大流行後)は4例(A型1例、B型3例、男性1例、女性3例、劇症型心筋炎が4例、死亡1例)2011/2012シーズンは2例(B型2例、男性1例、女性1例、劇症型心筋炎1例、死亡1例)のみであった。また劇症型でIABP/PCPSを使用した患者は4例でそのうち3例で救命された。一方でIABP/PCPS非使用では8例中4例で救命された。診断された時点で2例を除き抗インフルエンザ薬は投与された。各シーズンの小児のべ全入院患者数は各シーズン約30万人であった。

またインフルエンザウイルスA型のみに限れば2009/2010シーズンは7例(劇症型心筋炎が6例、死亡3例)で、2010/2011シーズン(大流行後)は1例(劇症型心筋炎が0例、死亡0例)のみであり、2011/2012シーズンの発症はなかった。A型ではIABP/PCPSを使用した患者は3例でそのうち全例で救命されているのに対し、非使用では3例中1例で救命されたのみであった。

また81施設からはインフルエンザによる入院患者数の報告があり、2009/2010シーズン(大流行時)は1977例、2010/2011シーズン(大流行後)は482例、2011/2012シーズンは474例であった。大流行時には所謂社会的入院はないという病院から45%を占めたという病院まで様々であった。

他のインフルエンザの合併症として肺炎に関しては69病院から回答があり、2009/2010シーズン(大流行時)は1,050例、2010/2011シーズン(大流行後)は228例、2011/2012シーズンは166例であった。脳症に関しては70病院から回答があり、2009/2010シーズン(大流行時)は107例、2010/2011シーズン(大流行後)は25例、2011/2012シーズンは44例であった。

また全国の小児科医への意識調査も行い451名から回答を得た。インフルエンザ診療において全例(8.2%)あるいは入院症例(12.6%)で心筋炎の合併を想定するとする小児科医は20.8%であった。重症例で想定するが68.3%、全く想定しないが6.8%であった。入院時にルーチンに行う検査として高率に行われているのは血液検査が97.6%、胸部X線写真が87.6%、呼吸器の培養検査が60.8%であり、心電図をルーチンに施行すると答えた小児科医は3.3%、心臓

超音波は0.7%であった。心筋炎の診断、重症度の判断に有用なCPKの採血は75.4%が行うが、CPKアイソザイムは3.3%、BNPもしくはNTpro-BNPは1.8%、トロポニンT迅速検査を行うとする小児科医は0.2%であった。

入院時に心電図検査を行う理由についての問いでは、心拡大を82.9%、心音異常を77.2%、心雑音を73.6%、胸痛を65.4%、頻脈を57.9%の小児科医が理由として挙げていたが、ルーチンに行うとした小児科医は1.1%であった。心臓超音波検査を行う理由としての上位は心拡大が83.4%、心音異常が79.4%、心雑音が73.6%であり、次に心電図異常が75.4%であった。ルーチンに心臓超音波検査を行うとした小児科医は0.2%であった。インフルエンザ心筋炎症例を経験したことのある医師は13.7%であった。今回の意識調査の最後にインフルエンザ心筋炎を意識しているかという問いを再度行ったところ全例(19.3%)あるいは入院症例(24.2%)で心筋炎の合併を想定する回答者は43.5%と有意に増加した。

マウスのH1N1pdm2009心筋炎モデルでは心臓超音波検査において左心室径の拡大と収縮力の低下を認め、心機能低下は抗ノイラミニダーゼ阻害薬投与により抑制された。またアンジオテンシン受容体拮抗薬によっても心機能低下は抑制された。組織学的にはリンパ球浸潤が主体の限局した心筋炎病巣を認めるのみであった。

D. 考察

平成23年度の調査では2009/2010シーズンのインフルエンザ心筋炎(H1N1pdm2009)は25例(男性17例、女性8例、平均年齢39歳)であったのに対し、2010/2011シーズンは4例(男性1例、女性3例、平均年齢45歳)のみであった。平成24年度の小児対象の調査では2009/2010シーズン(大流行時)の小児の心筋炎は8例(死亡3例)2010/2011シーズン(大流行後)は4例(死亡1例)2011/2012シーズンは2例(死亡1例)のみであった。これらの結果から大流行時に心筋炎が増加することは成人と同様に小児においても認められるが、インフルエンザの患者数を考えると小児における心筋炎発症の頻度は成人より低い可能性が考えられる。

また海外でも大流行時のインフルエンザ心筋炎について58例の報告が行われており、そのうち14例が小児であった。従ってH1N1pdm2009インフルエンザでは、世界的にも季節性に比して心筋炎合併が高頻度であった可能性が示唆されると考え、総説をInfluenza Research and Treatmentに報告した。

他の合併症について、肺炎に関しては2009/2010シーズンは1,050例、2010/2011シーズンは228例、2011/2012シーズンは166例であった。脳症に関しては2009/2010シーズンは107例、2010/2011シーズンは25例、2011/2012シーズンは44例であった。これらに関しても大流行時には増加したと考えられるが、A型の心筋炎の激減とは少し様相が異なる。

またマウスのH1N1pdm2009心筋炎モデルでは心臓超音波検査において左心室径の拡大と収縮力の低下を認め、心機能低下は抗ノイラミニダーゼ阻害薬投与により抑制された。組織学的にはリンパ球浸潤が主体の限局した心筋炎病巣を認めるのみであった。従ってマウスにおける組織所見も軽度でヒトと同様であり、インフルエンザウイルスの心臓親和性は高くないと考えられた。木戸らはマウスのインフルエンザ心筋炎発症にトリプシン2の活性化が関与し、その結果MMPやサイトカインが過剰発現し、抗トリプシン薬で抑制されると報告している。またインフルエンザ感染におけるサイトカイン過剰発現の中心は肺の血管内皮細胞で、上皮細胞ではないとの報告もあり、インフルエンザ感染によりトリプシンが心臓の血管内皮細胞で活性化し、それに引き続いておこる炎症性サイトカインがインフルエンザ心筋炎発症に強く関与するという仮説は有力と考えられる。また分担研究者が総説で報告したように剖検例で心筋、脳において出血がみられていることも血管内皮障害の存在を支持する証拠と考える。

インフルエンザウイルスAによる心筋炎が大流行時に増加し、その後減少した理由として動物実験の結果や本研究から考えるとインフルエンザ心筋炎ではインフルエンザウイルスの心臓親和性が決して高くはなく、インフルエンザ心筋炎発症のメカニズムとしては免疫反応の役割が大きいと考えられる。なお日本では生後3か月未満の心筋炎の症例はなかったという報告もある。従って成人に比して、小児において過剰な免疫反応がおこりにくいことが低発症率の一つの理由である可能性が考えられる。またA(H3N2)優位な流行であった2011/12はA型の発症がないこと、ビクトリア系統、山形系統があり必ずしもワクチンの効果が十分とは言えないB型の発症のみであることから、ワクチンや罹患による抗体の獲得がインフルエンザ心筋炎発症抑制に重要であると考えられる。

意識調査ではインフルエンザ診療において全例あるいは入院症例で心筋炎の合併を想定する小児科医は20.8%にすぎなかった。また昨年までの結果から診断において心電図変化、特にST-T変化は非特異的であるが頻度は高く、スクリーニングとして有用と考えられ、成人の入院例では心電図検査がルーチンに行われている一方で今回の意識調査ではインフルエンザ患者の入院時に心電図をルーチンに施行すると答えた小児科医は3.3%、心臓超音波検査は0.7%にすぎなかった。従って小児科において軽症の心筋炎が見逃されている可能性は否定できない。小児において安静がとれないという理由で心電図検査が行いにくい場合は、心臓超音波検査を優先して行うのも1つの有力な考え方と思われる。今回の意識調査の最後にインフルエンザ心筋炎を意識しているかという問いを再度行ったところ全例あるいは入院症例で心筋炎の合併を念頭に入れるという回答者は43.5%に増加し、インフルエンザ心筋炎の注意喚起に

より必要な検査の実施や軽症例の診断率が向上する可能性はあると考えられた。

治療に関しては通常心筋炎の急性期治療中に原因微生物を同定し、原因治療を行うことは殆どない。しかし今回は抗インフルエンザ薬が早期に投与され一定の効果があったと考えられる。またA型ではIABP/PCPSを使用した患者は3例でそのうち全例で救命されているのに対し、非使用では3例中1例で救命されたのみであった。従って心筋炎の急性期に急速な循環動態の悪化を認める場合は補助循環の使用を躊躇すべきでなく、循環器専門病院への速やかな紹介が必要と考えられた。またこのような集中治療の可能な医療施設との地域連携の強化が重要と考えられる。H1N1pdmによる小児の心筋炎の心症状はインフルエンザ様症状の発症後3日以内に出現し、かつ急激に悪化している症例が多く臨床的に注意が必要である。また今後はインフルエンザ心筋炎に対する治療法として抗ウイルス療法、抗サイトカイン療法の両面から検証していく必要がある。

E. 結論

成人でも小児でもインフルエンザ心筋炎は大流行時には季節性に比して増加し、次のシーズンには減少すると考えられた。合併症のない成人や小児でも発症する。

診断には病歴聴取、理学的所見に加え心電図、心筋逸脱酵素でスクリーニングし疑わしい症例では心臓超音波検査を行うことが必要である。成人では心筋炎のスクリーニングに有用な心電図検査がルーチンに行われている現状を考えると、小児において軽症の心筋炎が見逃されている可能性は否定できない。従って大流行時には臨床家特に小児科医師への注意喚起の必要性が示唆された。

原因療法として抗ノイラミニダーゼ阻害薬を投与し、劇症型心筋炎では体外式補助循環を躊躇せず使用することが救命に必要である。

ワクチン接種ないしはインフルエンザの罹患による抗体獲得がインフルエンザ心筋炎発症抑制に重要である可能性が考えられる。

心筋炎の発症頻度が低いため、多数症例の報告が少なく、エビデンスレベルは低い状況においてこのような調査の蓄積が重要と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) [Ukimura A, Ooi Y, Kanzaki Y, Inomata T, Izumi T. A National survey on myocarditis associated with Influenza H1N1pdm2009 in the pandemic and post-pandemic season in Japan. J Infect Chemother. Published online, 23 Oct. 2012.](#)

- 2) Ukimura A, Satomi H, Ooi Y, Kanzaki Y. Myocarditis Associated with Influenza A H1N1pdm2009. (Review) Influenza Research and Treatment. Published online, 2012.
- 3) 浮村 聡. 大流行時とその後の2シーズンにおける小児のインフルエンザ心筋炎の全国調査 第6回日本病院総合診療医学会 2013年3月2-3日 岐阜.

2. 学会発表

- 1) Ukimura A, Kanzaki Y, Izumi T. Fulminant myocarditis associated with Influenza A H1N1pdm2009 in Japan. The ESC_CONGRESS 2012 Congress, Aug. 25-29, 2012. Munich Germany.
- 2) 浮村 聡. 大流行時とその後のインフルエンザ H1N1pdm による心筋炎の疫学調査. 第5回日本病院総合診療医学会 2012年9月28-29日 横浜.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

- ① 特許取得
なし
- ② 実用新案登録
なし
- ③ その他
なし

インフルエンザ流行における亜型の検討

研究分担者	池松 秀之	九州大学先端医療イノベーションセンター	臨床試験部門
研究協力者	河合 直樹	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班	
	柏木 征三郎	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班	
	岩城 紀男	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班	
	廣津 伸夫	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班	

研究要旨

2011-12年流行期は前2シーズン（2009-2010と2010-2011年）に流行したA(H1N1)pdmはほとんどみられなくなり、患者より分離されたウイルスは、A(H3N2)が最も多く、残りはB型であった。

2010-2011年流行期は、H3N2は9歳以下、次いで10代が多く、20代以上の成人の患者数は少なかった。しかし2011-12年シーズンは10代、次いで9歳以下が多かったが、20代以上の各年代でも患者数が多かった。一方、B型の各年代の患者数は2010-2011年と2011-2012年はほぼ同じであった。特に60歳以上の比率は、2011-12年期のH3N2は13.5%と前シーズンのH3N2（6.5%）よりも有意に大きかった。

A. 研究目的

H21年（2009年）に出現したパンデミックウイルスのA(H1N1)pdm09は日本でも大流行し、2009-2010年流行期に日本臨床内科医会（日臨内）インフルエンザ研究班で分離されたウイルスの100%がこのA(H1N1)pdm09であった。しかし翌2010-2011年期はこのA(H1N1)pdm09の割合は50%以下に減少し、H3N2とB型を併せた3つの（亜）型による混合流行になった。このように流行するインフルエンザの亜型は毎年のように変化していることから日本臨床内科医会インフルエンザ研究班では、所属する全国約10数施設を中心に、インフルエンザ患者から分離されたウイルスの型・亜型を決定し、その情報を臨床データの解析に提供して、ウイルスの型・亜型と抗インフルエンザ薬の効果等との関連を明らかにする調査を継続している。また、分離されたインフルエンザウイルス株を用いて薬剤の*in vitro*の効果（IC₅₀）やH275Y変異の有無について検討を行うことにより、耐性ウイルスの出現に関する情報収集も行った。

B. 研究方法

2011-2012年のインフルエンザ流行期に、症例から採取された臨床検体より、ウイルスの分離培養を実施し、感染したインフルエンザウイルスの型・亜型を、抗血清を用いてHA法により確定した。亜型の判定に関しては、さらに型特異的なプライマーを用いてPCR法により同様に確定した。

また、治療後において、これらの症例から採取された臨床検体より、同様にウイルスの分離培養およびPCRを用いて、ウイルスの残存を検討した。さらに各ノイラミニダーゼ（NA）阻害薬に対するIC₅₀値も測定し、一部の症例ではH275Y変異の有無を遺伝子解析した。

（倫理面への配慮）

被験者に対しては本研究の目的等を十分に説明し、文書または口頭で同意が得られた患者のみを対象とした。登録基本データはID、イニシャル、性別、生年月日とし、個人名や住所などの個人の特定につながる情報は記載しなかった。また、臨床検体については別にID番号を設定し、第三者が個人の特定をできないように配慮を行った。

C. 研究結果

(1) 2010-2011年流行期は、A(H1N1)pdm09が最も多かったものの、H3N2、Bとの3（亜）型の混合流行であった。しかし2011-2012年流行期はA(H1N1)pdm09はほとんどみられなくなり、H3N2が73%と最も多く、B型が27%での2つの型の混合流行であった（図1）。
(2) 年齢別にみると、H3N2亜型では2010-2011年流行期は9歳以下が最多で、次いで10代が多く、成人特に20代や50代以上は少なかった。それに比べて、2011-2012年流行期は10代が最も多く、次いで9歳以下が多かったが、20代以上の患者も前シーズンよりも明らかに多かった（図2）。

一方、B型の患者数は両シーズンともに9歳以下が最も多く、次いで10代が多かったが、20代以上の成人や高齢者では少なかった（図3）

(3) この2シーズンの患者年齢の分布をみると、同じH3N2亜型でも60歳以上の高齢者の比率は前シーズン（6.5%）よりも2011-2012年流行期は13.5%と有意に多かった（ $p < 0.05$ ）（図4）。

(4) オセルタミビルに対するIC₅₀値が著しく高いウイルスはH3N2、Bでは分離されず、この結果は前シーズンのH3N2、Bと同じであった。

D. 考察

2009-2010年流行期はA(H1N1)pdm09一色の流行となり、これ以外のA亜型のウイルスはほとんどみられなかった。この後も2009-2010年同様の

H1N1pdm09 主体の流行が何年か続くと思われたが、翌2010-2011年流行期には早くもH3N2亜型が復活し、Bと併せて3(重)型の混合流行となった。そして2011-2012年期にはH1N1pdm09亜型はほとんど検出されなかった。H1N1pdm09亜型は海外ではまだ発生がみられている地域もあるが、2009年の出現当初からウイルスの変異があまりみられていないこと、またこの亜型に対するワクチンの有効性も高いことなどから、広い年齢層ですでに一応の免疫を獲得されており、流行しなかった可能性が考えられる。

またH3N2亜型に関しては、2006-2007年流行期まではA亜型の流行の主体であったが、2007-2008年以降はH1N1亜型が中心となり、ここ数年は影が薄かった。2010-2011年流行期は9歳以下が最も多く、20歳未満が70%を超えた。しかし2011-2012年流行期は20歳以上の成人がほぼ半数を占め、特に60歳以上の患者の割合は前シーズンよりも有意に多かった。60歳以上の高齢者は過去に繰り返しH3N2に罹患したり、ワクチン接種したことあると考えられるが、このような年齢層で2011-2012年シーズンに患者数が増えたことは、このH3N2の連続変異が進んでいる可能性が示唆された。

NA阻害薬に対する耐性ウイルスの出現は非常に重要な問題であり、2009-2010年、2010-2011年流行期には、A(H1N1)pdm09にのみオセルタミビルに対する IC_{50} 値が著しく高いウイルスがそれぞれ1~2%程度検出された。しかしH3N2、Bではオセルタミビルに対する IC_{50} 値が著しく高いウイルスはわれわれの研究では1例も検出されていない。今年度も決定された亜型は各NA阻害薬の臨床効果やその他の解析に用いられ有用な情報が得られている(河合報告参照)。

E. 結論

(1) 2011-2012年流行期に患者より分離されたインフルエンザウイルスの型・亜型は、H3N2が73.0%、Bが27.0%であり、A(H1N1)pdm09はみられなかった。

(2) 2011-2012年流行期は前2010-2011年流行期に比して、B型では患者の年齢層に大きな変化はなく小児中心の流行であったが、H3N2型では成人患者が明らかに増えた。特に60歳以上の患者割合は13.5%と前シーズンよりも有意に増加した。

(3) 2011-2012年流行期に患者より分離されたH3N2、B型ウイルスには、オセルタミビル、ザナミビル、ラニナミビル、ペラミビルのいずれに対しても IC_{50} 値が著しく上昇したウイルスは検出されなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ikematsu, H., N. Kawai, and S. Kashiwagi. In

vitro neuraminidase inhibitory activities of four neuraminidase inhibitors against influenza viruses isolated in the 2010-2011 season in Japan. *J Infect Chemother*, 2012. 18(4): p. 529-33.

- 2) Ikematsu, H. et al., The post-infection outcomes of influenza and acute respiratory infection in patients above 50 years of age in Japan: an observational study. *Influenza Other Respi Viruses*, 2012. 6(3): p. 211-7.
- 3) Kawai, N. et al., Persistence of pandemic influenza H1N1 virus in young patients after oseltamivir therapy in the 2009-2010 season: a comparison with seasonal H1N1 with or without H275Y mutation. *J Infect Chemother*, 2012. 18(2): p. 180-6.
- 4) Kawai, N. et al., Increased symptom severity but unchanged neuraminidase inhibitor effectiveness for A(H1N1)pdm09 in the 2010-2011 season: comparison with the previous season and with seasonal A(H3N2) and B. *Influenza Other Respi Viruses*, 2012.
- 5) 河合直樹、池松秀之、柏木征三郎、石黒信久. インフルエンザ診療 2012-2013 の対策 (内科/小児科). *Physicians' Therapy Manual (PTM)* 5: Nov, 1-4, 2012.
- 6) 河合直樹、廣津伸夫、池松秀之. インフルエンザ診療マニュアル 2012-2013 年シーズン版. インフルエンザ研究班編集 (柏木征三郎、岩城紀男監修). *日本臨床内科医会会誌* 27 巻 2 号臨時付録, 2012.

2. 学会発表

- 1) 池松秀之. インフルエンザウイルス感染症. 第109回日本内科学会講演会(京都)、2012. 4. 15.
- 2) 池松秀之. インフルエンザ診療の進歩. 第86回日本感染症学会総会・学術講演会(長崎)、2012. 4. 25.
- 3) 池松秀之. 50歳以上の急性呼吸器感染患者におけるインフルエンザの臨床症状および社会的影響の検討. 第86回日本感染症学会総会・学術講演会(長崎)、2012. 4. 25.
- 4) H. Ikematsu, N. Kawai, N. Iwaki, S. Kashiwagi. In vitro neuraminidase inhibitory activities of four neuraminidase inhibitors against influenza viruses isolated in the 2010-2011 influenza seasons in Japan. 15th International Congress on Infectious Diseases (Bangkok), June, 16th. 2012.
- 5) 池松秀之. インフルエンザにおける迅速診断キットとHI抗体価測定の結果. 第26回日本臨床内科医学会(徳島) 2012. 10. 7.
- 6) 池松秀之. 最近のインフルエンザの流行状況と抗インフルエンザ薬の有効性. 第61回日本

感染症学会東日本地方会学術集会/第59回日本化学療法学会東日本支部総会（東京）、2012. 10. 12.

2012. 11. 05.

- 7) 池松秀之, インフルエンザの診断と治療. 第60回日本化学療法学会西日本支部総会/第55回日本感染症学会中日本地方会学術集会/第82回日本感染症学会西日本地方会学術集会(福岡)、

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

図1 2流行期において分離されたインフルエンザウイルスの型・亜型別頻度

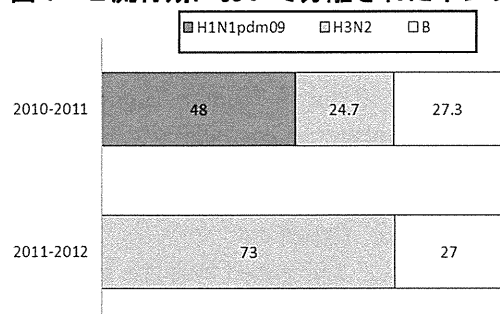


図2. 2流行期における各年代のA (H3N2) 亜型患者数

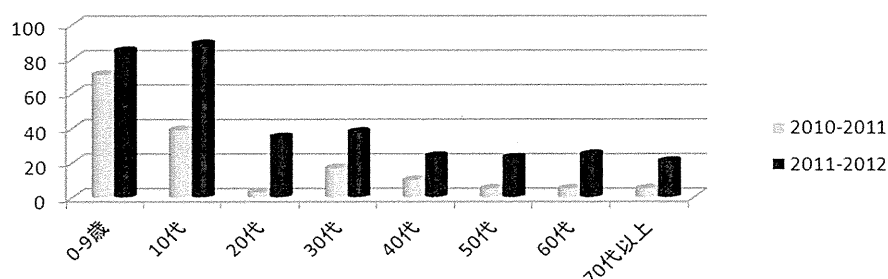


図3. 2流行期における各年代のB型患者数

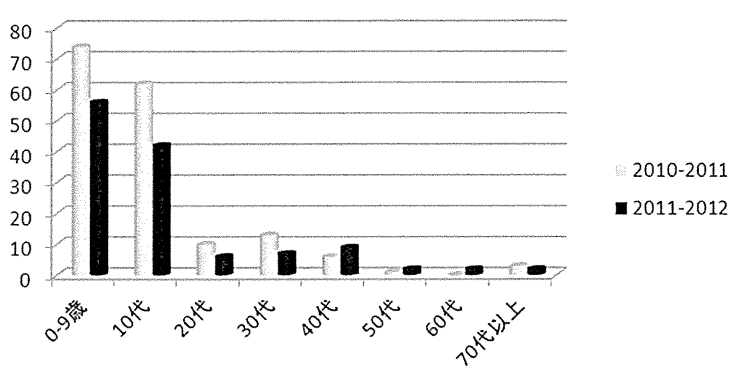
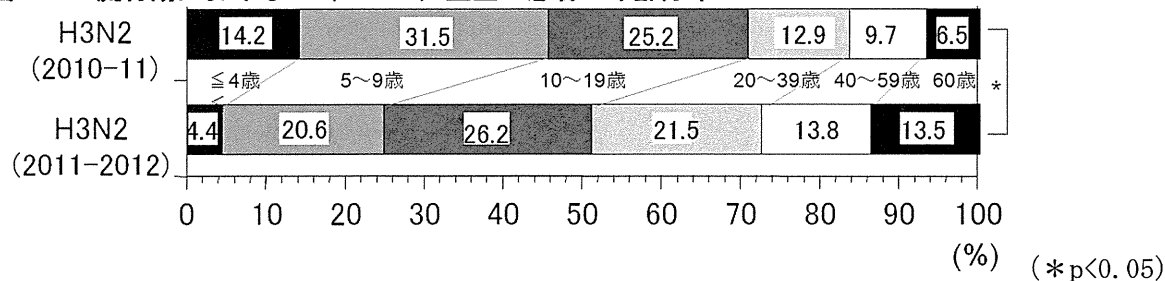


図4. 2流行期におけるA (H3N2) 亜型の患者の年齢分布



2011-12 年シーズンの抗インフルエンザ薬の使用状況と有効性に関する研究

研究分担者	河合 直樹	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班長
研究協力者	池松 秀之	九州大学先端医療イノベーションセンター特任教授
	柏木 征三郎	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班
	岩城 紀男	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班
	廣津 伸夫	日本臨床内科医会インフルエンザ研究班

研究要旨

2010 年以降ノイラミニダーゼ（NA）阻害薬として、従来のオセルタミビルに加えてペラミビルとラニナミビルが使用可能となったが、2011-12 年シーズンの各薬剤の使用状況も患者年齢によってかなり異なった。またこのシーズンに流行した A(H3N2) 型や B 型のいずれでも解熱時間の検討により各 NA 阻害薬の高い有効性が示され、前シーズンに比較しても特に有効性等の低下はみられなかった。またウイルス残存率の面からも各薬剤の有効性の低下を示唆する結果はみられず、耐性化の兆候はみられないと考えられた。ただし A(H1N1)pdm09 も世界的にはまだ流行しており、今後日本で再び流行する可能性もあり、耐性化も含めて今後も慎重に動向を追う必要があると考えられた。

A. 研究目的

2010 年以降、ノイラミニダーゼ（NA）阻害薬として、従来のオセルタミビルに加えて、ペラミビルとラニナミビルが使用可能となった。しかしまだこれら 4 種類の NA 阻害薬の有効性や使い分けについては十分な検討が進んでいないと思われる。一方、オセルタミビルに耐性化した A(H1N1) ソ連型は 2009 年の A(H1N1)pdm09 の出現とともに消失し、また A(H1N1)pdm09 も 2011-12 年シーズンにはほとんど見られなくなってきているが、今後も NA 阻害薬の耐性化に目が離せない状況に変わりはない。この抗イ薬の耐性化を臨床的にチェックする手段としても抗イ薬の有効性を解熱時間やウイルス残存率で毎年追うことは重要と考えられる。ここでは、2011-12 年シーズンにおける 4 種類の NA 阻害薬の使い分けの状況、およびこのシーズンに流行した A(H3N2) と B の 2 型における 4 種類の NA 阻害薬の有効性の検討を行った。

B. 研究方法

2011-12 年シーズンにおいて流行したインフルエンザ症例について、別途池松らが報告する PCR の検討結果に基づいて A(H3N2)、B の 2 群に分け、以下の①～③について検討した。①キットによりインフルエンザと診断された患者における NA 阻害薬の使用状況を調査した。②各ウイルス型、薬剤における解熱時間（投薬開始～解熱、ただし解熱は 37.4℃以下）を検討した。③ウイルス培養法により、ウイルス残存率（NA 阻害薬投与前にウイルスが検出された症例数のうち投与開始 5±1 日目に再度ウイルスが検出された症例数の割合）を A(H3N2) については全 4 剤、B については 2 剤（オセルタミビル、ザナミビル）で検討した。

（倫理面への配慮）

各研究における登録基本データは ID、イニシャル、性別、生年月日とし、個人名や住所などの個人の特定につながる情報は記載しなかった。また被験者に対しては本研究の目的等を十分に説明し、文書または口頭で同意が得られた患者のみを対象とした。

C. 研究結果

①本研究登録患者での NA 阻害薬の使用状況は図 1 に示すように年齢層で大きく異なった。すなわち、4 歳以下ではほとんどの症例（96%）でオセルタミビルが使われた。5～9 歳と 60 歳以上では依然としてオセルタミビルが過半数（各々 58% と 53%）と最も多く使用された。10 代ではザナミビルが最も多く使われ、次いでラニナミビルが使用された。20～59 歳の成人層ではオセルタミビルとラニナミビルが多く使用された。

②A(H3N2) と B の各（亜）型において、4 種類の NA 阻害薬投与後の解熱時間を図 2 に示した。H3N2 型では 4 剤のいずれでも解熱時間が 27～28 時間と薬剤間の差はほとんどみられなかった。一方、B 型ではいずれの薬剤でも H3N2 型よりも解熱時間が長い傾向にあった（ペラミビルは B 型が少ないため対象から除外）。

次にペラミビルを除く 3 剤について、各（亜）型における解熱時間を 2010-2011 と 2011-2012 の連続 2 シーズン間で比較した。この結果、H3N2 においてはいずれの薬剤も 2010-2011 年よりも 2011-2012 年シーズンにやや解熱時間が短縮している傾向がみられた（図 3）。一方、B においては 3 剤ともこの 2 シーズン間で解熱時間はほとんど変化がみられなかった（図 4）。

日本臨床内科医会が 2002-2004 年シーズン以降、

毎年続けているオセルタミビルとザナミビルにおける解熱時間の推移を図5に示す。この図より、オセルタミビルはほぼ100%のウイルスが耐性化した2008-2009年シーズンに解熱時間が50時間弱と大幅に延長した以外はいずれのシーズンにおいても解熱時間は30時間前後で推移した。一方、ザナミビルは2008-2009年シーズンも含めた全シーズンにおいて解熱時間は30時間前後と良好な効果が確認された。

ウイルス残存率はH3N2型では全年齢で10~10数%と低かった。一方、B型では特に年少者の使用例が多いオセルタミビルでは40%前後と高かったが、ザナミビルでは20数%と比較的良好であった(表1)。

D. 考察

NA阻害薬の使用状況については、一部の年齢層で使用しやすい薬が限られている現状が示された。具体的には4歳以下ではオセルタミビル以外の選択が難しく、10代ではオセルタミビルの使用が困難なため、吸入薬のザナミビルやラニナミビルが主体とならざるを得ないと考えられた。またこれらの両年代の中間にあたる5~9歳ではオセルタミビルが過半数と依然として主体ではあるが、ザナミビルやラニナミビルなどの吸入薬の占める割合も大きかった。また20~59歳の成人層ではオセルタミビルとラニナミビルが使用者を2分した形になり、60歳以上の高齢者ではオセルタミビルが中心であった。同じ吸入薬でも10代はザナミビル、20歳以上はラニナミビルが中心となっていることは興味深い。

2011-2012年シーズン、H3N2よりもBの方が各薬剤ともに解熱時間が長い傾向にあったのは従来のわれわれの報告と一致している。ただ特にH3N2ではこの4剤の有効性にほとんど差がなかったことから、臨床現場での薬剤選択では患者の年齢、状態などを勘案していずれの薬剤を選択しても特に大きな問題はないと考えられた。なおB型についてはまだ症例数が必ずしも多くないため、いずれの薬剤が好ましいかはもう少し検討の余地がある。

また2010-2011年と2011-2012年でB型の解熱時間はほとんど変化がなかった。実際には2011-2012年シーズンは従来のビクトリア系統に加えて山形系統も増加してきているが、この系統の変化はまだそれほどNA阻害薬の有効性に大きな影響を及ぼしていない可能性が示唆された。一方、H3N2ではいずれの薬剤も2010-2011よりも2011-2012年シーズンの方が、解熱時間が短縮している傾向がみられた。これは2011-2012年シーズンに成人患者が増えたことと関係している可能性があるが、今後さらに検討が必要と思われた。

日臨内研究でウイルス培養と解熱時間の調査が始まった2003-2004年シーズン以降のオセルタミビルとザナミビルの解熱時間の経年推移をみると、オセルタミビル耐性ソ連型が大流行した2008-2009年の

オセルタミビルを除いては両薬剤ともにいずれにシーズンも解熱時間に変化はなかった。このことから過去10年近くに亘って、オセルタミビル、ザナミビルの有効性に大きな変化はなく、現状では耐性ウイルスの存在は解熱時間から判断しても考えにくい状況と思われた。

なおウイルス残存率は従来のわれわれの成績と同様に、小児の特にB型で高いことが示唆された。しかし特にH3N2での残存率は低く、この面からもH3N2亜型では耐性ウイルスの存在は考えにくい状況であった。またBでのウイルス残存率も過去のわれわれのデータとほぼ近似していた。

E. 結論

2011-12年シーズンにおいて流行したA(H3N2)型やB型において、NA阻害薬の高い有効性が示された。また解熱時間のこの2シーズンの動向やウイルス残存率からいずれの薬剤の有効性にも大きな変化はなく、耐性化の兆候もみられないと考えられた。ただしA(H1N1)pdm09も世界的にはまだ流行しており、今後日本で再び流行する可能性もあり、耐性化も含めて今後も慎重に動向を追う必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 河合直樹、前田哲也、川島崇、廣津伸夫、池松秀之、柏木征三郎. 4種のノイラミニダーゼ阻害薬の使い方. インフルエンザ 13:105-110, 2012.
- 2) 河合直樹、廣津伸夫、池松秀之. インフルエンザ診療マニュアル2012-2013年シーズン版. インフルエンザ研究班編集(柏木征三郎、岩城紀男監修). 日本臨床内科医会誌 27巻2号臨時付録, 2012.
- 3) 河合直樹、池松秀之、柏木征三郎. 抗ウイルス薬治療の実際. インフルエンザ. 臨床と研究 89:1369-1373, 2012.
- 4) 河合直樹. 検査・投薬のポイント. インフルエンザ診療マニュアルから. メディカル朝日 41:11号, 19-21, 2012.
- 5) 河合直樹、池松秀之、柏木征三郎、石黒信久. インフルエンザ診療2012-2013の対策(内科/小児科). Physicians' Therapy Manual (PTM) 5: Nov, 1-4, 2012.
- 6) 河合直樹、池松秀之、柏木征三郎. 新型インフルエンザは再びおこるか. インフルエンザの治療-成人. 臨床と研究 89:1645-1649, 2012.
- 7) 河合直樹、池松秀之、柏木征三郎. 今シーズンにおける抗インフルエンザ薬の使い方. 日経メディカル 2013年1月号(第542号) 107-109.

8) Kawai N, Ikematsu H, Kawashima T, Maeda T, Ukai H, Hirotsu N, Iwaki N, Kashiwagi S. Increased symptom severity but unchanged neuraminidase inhibitor effectiveness for A(H1N1)pdm09 in the 2010-2011 season: comparison with the previous season and with seasonal A(H3N2) and B. Influenza Other Respi Viruses. 2012 Aug 16. doi:10.1111/j.1750-2659.2012.00421.x. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- 1) 河合直樹. インフルエンザの流行状況とワクチン、抗イ薬の有用性について. 第 26 回日本臨床内科医学会, 徳島, 2012 年 10 月.
- 2) 河合直樹. インフルエンザの流行状況と治療の

現状ーラニナミビルを中心に. 第 60 回日本化学療法学会西日本支部総会、第 55 回日本感染症学会中日本地方会、第 82 回日本感染症学会西日本地方会、イブニングセミナー2. 福岡, 2012 年 11 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図 1. 2011-2012 年シーズンにおける各ノイラミニダーゼ阻害薬の使用状況

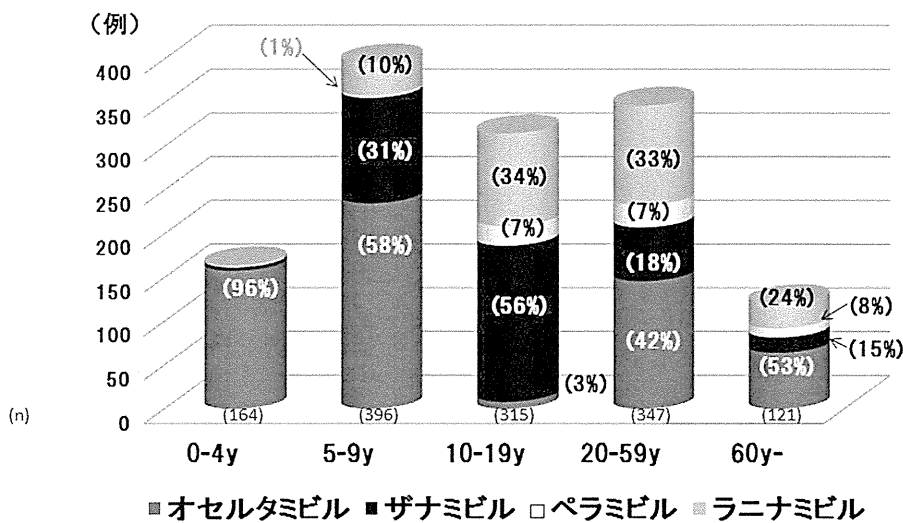
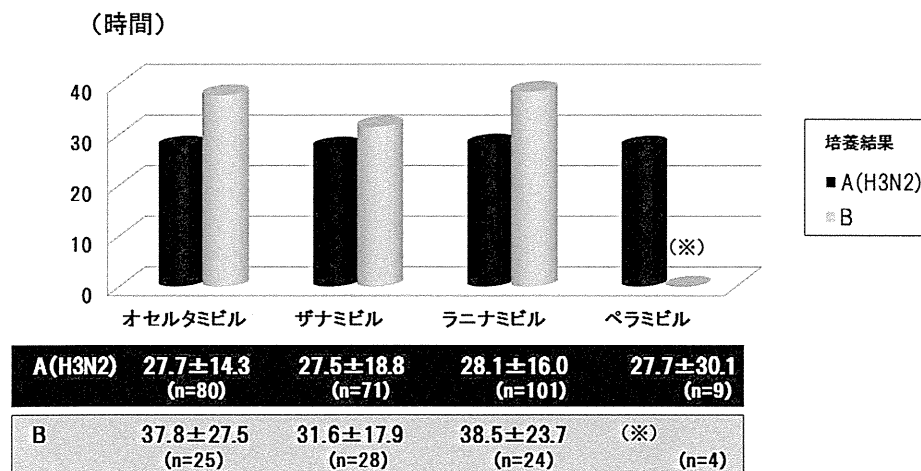
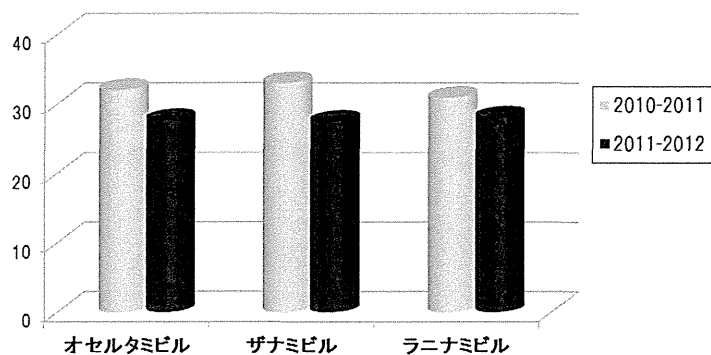


図 2. 2011-2012 年シーズンの A、B 型における解熱時間 (投与開始～解熱)



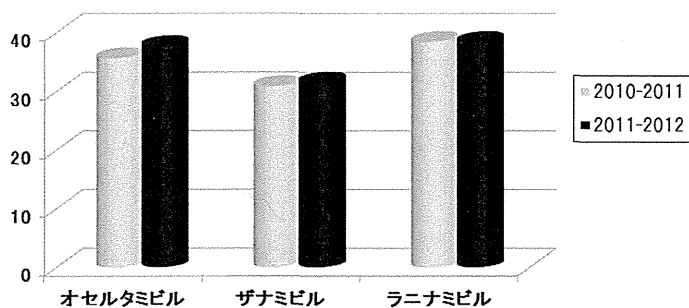
(※症例数が少ないため解析から除外)

図3. A(H3N2)型における解熱時間の2シーズン（2010-2011年、2011-2012年）の推移



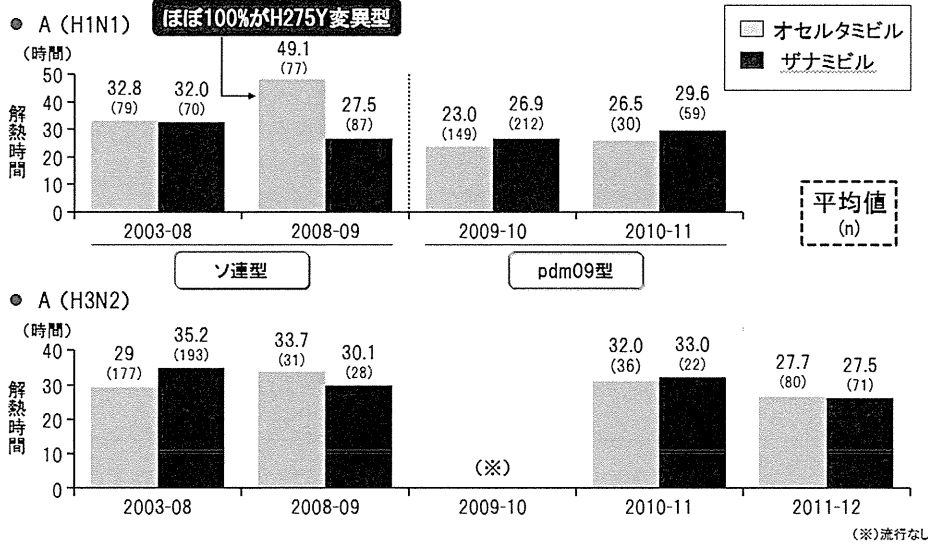
2010-2011	32.0±19.8 (n=36)	33.0±22.1 (n=22)	30.9±21.1 (n=33)
2011-2012	27.7±14.3 (n=80)	27.5±18.8 (n=71)	28.1±16.0 (n=101)

図4. B型における解熱時間の2シーズン（2010-2011年、2011-2012年）の推移



2010-2011	35.7±25.7 (n=36)	30.9±16.8 (n=19)	38.5±26.3 (n=36)
2011-2012	37.8±27.5 (n=25)	31.6±17.9 (n=28)	38.5±23.7 (n=24)

図5. 2003-2004年5シーズン以降のオセルタミビル、ザナミビル投与後の平均の解熱時間の推移



引用: Naoki Kawai, et al. 2003-08: CID48, 2009, 2008-09: CID49, 2009, 2009-10: JIG17, 2011, 2010-11: IRV

(注) 2003-2004年～2007-2008年シーズンは一括して平均を算出

表1. 各薬剤投与開始5±1日目のウイルス残存率 (ウイルス培養による)

亜型	抗インフルエンザ薬	年齢		
		15歳以下 % (例数)	16歳以上 % (例数)	全年齢 % (例数)
A/H3N2	オセルタミビル	21.1% (4/19)	0% (0/4)	17.4% (4/23)
	ザナミビル	16.2% (6/37)	0% (0/18)	10.9% (6/55)
	ラニナミビル	17.4% (4/23)	18.2% (4/22)	17.8% (8/45)
	ベラミビル	— (0/0)	16.7% (1/6)	16.7% (1/6)
B	オセルタミビル	46.2% (6/13)	25% (1/4)	41.2% (7/17)
	ザナミビル	29.2% (7/24)	0% (0/6)	23.3% (7/30)

ウイルス残存率はウイルス培養による「抗インフルエンザ薬投与開始5±1日目におけるウイルス検出例数/投与前の同検出例数」。なおB型の対象はザナミビルは10歳以上が多く、オセルタミビルは10歳未満の幼小児例が多い。

2011-2012 年本邦におけるインフルエンザ流行、薬剤耐性、抗インフルエンザ剤の効果

分担研究者	齋藤玲子	新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野（公衆衛生）教授
研究協力者	クライド・ダバット	新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野
	イゾルデ・ダバット	新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野
	近藤大貴	新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野
	菖蒲川由郷	新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野
	齋藤孔良	新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野
	鈴木宏	新潟青陵大学
	日本サーバイランスグループ*	

研究要旨

2011-2012 年シーズンに日本各地から採取し、分離したインフルエンザウイルスのウイルス抗原性解析、薬剤耐性の出現状況と、抗インフルエンザ剤投与後の小児の治療経過について検討した。全国 8 都道府県の医療機関へインフルエンザ様疾患で受診した患者の臨床検体 1393 名から、A/H3N2 519 件、B 型 425 件のインフルエンザウイルスを分離した。B 型はビクトリア系 382 件（90%）、山形系 43 株（10%）の二系統が検出された。A/H3N2 は、2011-2012 年シーズンのワクチン株から抗原性が変化していた。B 型のビクトリア系株は 2011-2012 年ワクチン株と一致していた。少数だが検出された山形系のウイルスは、来季の 2012-2013 年のワクチン株と一致していると考えられた。230 株を選択し 4 種類の NA 阻害剤に対する薬剤感受性試験（IC₅₀ 値）を行った。A/H3N2 および B 型で、初診時と薬剤投与後の再診時の双方で高度薬剤耐性株の出現はなく、すべて NA 阻害剤に対して感受性であると考えられた。オセルタミビル又はラニナミビルで小児を治療した際の解熱効果を比較した。15 歳以下の小児では A/H3N2 と B 型に対して二剤の解熱効果に差は無かった。しかし、5-10 歳の B 型罹患児でラニナミビルの解熱時間のばらつきがみられる可能性が示唆された。

A. 研究目的

我々は 2005 年より全国各地の臨床医と協力し、本邦に於けるインフルエンザの流行状況、流行株の遺伝子疫学的特徴、薬剤耐性頻度と遺伝子解析、抗インフルエンザ剤の薬剤効果と耐性株による薬剤治療への影響を調査してきた。

今回、我々は、2011-2012 年シーズンの本邦で流行したインフルエンザウイルスの 1) 抗原性解析、2) 薬剤耐性の出現頻度、3) 抗インフルエンザ剤の解熱効果について調査を行ったため、報告する。

B. 研究方法

2011-2012 年インフルエンザシーズンに 8 府県（北海道、新潟、群馬、東京、京都、大阪、兵庫、長崎）、16 医療機関（内科・小児科）において、インフルエンザ様疾患で受診した患者に対し、迅速診断キットを用いてインフルエンザのスクリーニングを行った。十分な説明を行った後、主治医が初診時の患者の鼻腔ぬぐい、咽頭ぬぐい、または鼻腔吸引液を採取し、性、年齢、受診日、抗インフルエンザ剤の処方内容について記録した。主に小児科では、患者の治療後の解熱経過を家族に依頼して記録し、さらに同意を得られた患者から治療開始 2-4 日目にあたる再診時に 2 回目の検体採取を行った。採取された検体は、

新潟大学に輸送後、MDCK 細胞を用いてウイルス培養を行った。培養陽性の検体から、リアルタイム PCR を用いてインフルエンザの型・亜型を決定した。A/H3N2 ウイルスについては、アマンタジン耐性のマーカーである M2 蛋白 Ser31Asn の遺伝子変異をリアルタイム PCR を用いてスクリーニングした。一部の株を選んで抗原性解析を赤血球凝集素阻止試験（HAI）により行った。HAI の抗体は、2011-2012 年のワクチン株である A/H3N2/Victoria/210/2009（A/Perth/16/2009 類似）と、B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系）、3 シーズン前の 2008/2009 年のワクチン株である B/Florida（フロリダ）/4/2006（山形系）を用いてモルモット血球にて行った。HAI を行った培養株はウイルスヘマグルチニン（HA）遺伝子とノイラミニダーゼ（NA）遺伝子のシーケンスを行い、遺伝子近縁性について樹形図解析を行った。なお、ウイルス遺伝子の分類は WHO 分類に従った。

選択した株で、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビルの 4 種類の NA 阻害剤に対して MUNANA を用いた蛍光法による感受性検査を行った。各型・亜型、4 剤の薬剤毎に、ウイルス株の IC₅₀ 値から外れ値を定義し、その値を超えたものを耐性と判定した。まずは、IC₅₀ 値の第 1 四分位点（25% タイル）と第 3 四分位点（75% タイル）を算出し、その二つの値から四分位範囲（IQR）を求めた。各型・亜型

に対する 75% タイル値に IQR の 3 倍値を加え、それより高い IC₅₀ 値をはずれ値とした。感受性試験に供した初診時検体は各県からほぼ同数になるよう選択し、再診時検体は、数が少なかったため、初診とペアとなるものは薬剤感受性試験を行った。

NA 阻害試験で、はずれ値を示したウイルスは分離株とその臨床検体のオリジナル株の双方について NA 遺伝子シーケンスを行い耐性に関連するアミノ酸変異を推定した。

小児の解熱効果の評価を行うため、保護者に依頼し、家庭での体温を 1 日 3 回 (9 時、12 時、20 時)、受診後 7 日間まで記録した。主治医が、受診までの時間、ワクチン接種の有無、抗ウイルス薬の使用 (オセルタミビル 0s、ラニナミビル Lan または無治療 Non) について記録した。受診 (治療) から 37.5 度以下に解熱 (24 時間以上 37.5 度以下が続く) するまでの時間を薬剤別に単変量解析の Kaplan-Meier 法で検討し、Log Rank test で有意差検定を行った。次に、治療群間 (0s 群対 La 群) における解熱時間のばらつきをみるために等分散性の検定 (Levene の検定) を行った。多変量解析として、Cox 比例ハザードモデルにより、性・年齢・ワクチン接種歴・発症から来院までの時間を調整し 37.5 度以下の解熱までの時間の比較を行った。解析は 0-15 歳と、5-10 歳のみで行った。なお、0-5 歳、5-10 歳のサブグループは 0s 又は La 治療群のどちらかが例数が少なかったため検討しなかった。

(倫理面への配慮)

本調査においては、検体採取と患者情報聴取に当たって、各医療機関にて患者及保護者に十分な説明を行い、新潟大学医学部倫理委員会にて承認を受けた。

C. 研究結果

2011-12 年シーズンに 8 府県 (北海道、新潟、群馬、東京、京都、兵庫、大阪、長崎) の病院または医院から 1393 株の臨床検体を採取した。臨床検体から 944 株のインフルエンザウイルスを分離し、A/H3N2 が 519 株 (55%)、B 型が 425 株 (45%) であった (表 1)。B 型は B/Victoria 系が 382 株 (90%)、B/山形系が 43 株 (10%) で Victoria 系が優勢をしめし、山形系統との混合流行であった。地域別では、新潟と群馬を除く 6 府県で A/H3N2 が優勢の流行を示していた (図 1)。新潟と群馬では B 型が流行株の 7 割を占めた。A 型のピークは 2012 年の第 4 週にあり、B 型のピークは第 6-8 週であった (図 2)。B/山形系は流行株の 10% と少数であったが、流行が終わりに近づくにつれ数が増してくる傾向にあった。リアルタイム PCR サイクリングプローブ法を用いたスクリーニングの結果、2011-2012 年の A/H3N2 は全て M2 蛋白 31 位の変異 (Ser→Asn) を持ち、アマンタジン耐性と考えられた。

HAI による抗原性解析を、A/H3N2 の 77 株について行った。A/Victoria/210/2009 のホモ価が 1280 倍以上に対して、今季の流行株は HAI 価が 40-160 倍と

97% の株が 8 倍以上の HI 価の低下を示し抗原性がワクチン株と異なっていた (図 3)。HA 遺伝子解析を行ったところ、A/H3N2 は、全て WHO 分類の Victoria/208 クレードの 3C と 3B に属した (図 4)。これらはワクチン株である A/Victoria/210/2009 (A/Perth/16/2009 類似) 株に対して、HA 遺伝子に 6 箇所の変異を認め、進化が進んでいたことが判明した。なお、この流行株の変化をうけ、2012-2013 年のワクチン株は、クレード 3C に属する A/Victoria/361/2011 に変更された。HAI 試験ではクレード 3B と 3C に抗原性の差は無かった。

B 型インフルエンザは、HA 遺伝子解析でビクトリア系と山形系に分かれた (図 5)。ビクトリア系は 2011-2012 年シーズンワクチン株の B/Brisbane/60/2008 (Clade 1) に類似した株が流行した。シーズン後半で少しずつはやりだした山形系のウイルスは Brisbane03 系 (Clade 2) と Banglادish3333 (Clade 3) に分かれた。なお、2012-2013 年のワクチン株の B/Wisconsin/1/2010 は Banglادish3333 (Clade 3) に属する。

B 型の HAI による抗原性解析は 73 株で行った。2011-2012 年シーズンワクチン株の B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系) のウイルスと判定されたものが 48 株で、ホモ価 320 倍に対して流行株は 80-320 倍と抗原性はほぼ一致していた (図 6)。残りの 25 株は、3 シーズン前の 2008/2009 年のワクチン株である B/Florida (フロリダ) /4/2006 (山形系) に反応し、山形系と判定された。ホモ価 320 倍に対して 40-80 倍と反応が低下しており抗原性が異なっていると考えられたが、3 シーズン前のワクチン株であるため本シーズンの流行株にあっていないのは当然と考えられた (図 7)。なお、2012-2013 年シーズンのワクチン株である B/Wisconsin/1/2010 (Clade 3) は血清が入手できなかったため検査できなかった。山形系は Clade 2 と Clade 3 にわかれるが、少なくとも B/Florida (フロリダ) /4/2006 に対する血清抗原性は二つのクレードの間で 2 倍程度の違いで差は無かった。

本邦で保険適応のある、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビルの 4 剤の NA 阻害剤に対して、薬剤感受性試験を行った。初診・再診をあわせ 230 株 (A/H3N2 165 株、B 型 65 株) のインフルエンザ株を選び、蛍光法による薬剤感受性試験を行った。初診時検体 (治療前) の A/H3N2 (N=147 株) の IC₅₀ 値は 4 剤に対してそれぞれ、0.70±0.27nM (オセルタミビル)、0.63±0.24nM (ザナミビル)、0.29±0.13nM (ペラミビル)、0.57±0.14nM (ラニナミビル) と低かった (図 8)。初診時の 9 株がわずかに外れ値をしめしたが、その程度は平均値の 4 倍程度まで (~2nM) に留まった。NA 遺伝子解析の結果からは、9 株のうち 4 株に D151/G/N があり、2 株に T148I/K が認められた。残りの 2 株の培養株には遺伝子変異が認められなかった。なお、これらをオリジナル検体 (臨床検体) に戻って NA 遺伝子解析を行ったところ、前述の NA 変異は全く認められなかった。

このため、IC50 の僅かな上昇につながった NA 遺伝子変異は、MDCK 細胞による培養により選択されたものと考えられた。

A/H3N2 で初診と薬剤治療後 2-4 日再診のペアで採取された株は 18 組あった。初診時に比して再診時に IC50 の上昇を示したものはなく、薬剤投与後に耐性株の出現は無かった (図 9)。なお、1 例でザナミビルに対する IC50 値が 5 倍程度上昇しており、NA 遺伝子シーケンスでは 151 位の変異が見られた。しかし、この例では NA 阻害剤は投与されていないため (無治療)、なぜ IC50 値が上昇したのか不明である。

B 型インフルエンザは、初診株 57 株、薬剤投与後の再診株 8 株に対して感受性試験を行った。初診時検体 (治療前) の B (N=57 株) の IC50 値は 4 剤に対してそれぞれ、31.28±12.35nM (オセルタミビル)、11.09±4.07nM (ザナミビル)、1.76±0.76nM (ペラミビル)、4.06±1.15nM (ラニナミビル) であり、A 型に比して B 型の IC50 値は 4 剤とも 10 倍ほど高かった (図 10)。B 型では初診時株 1 件が、ザナミビルで平均値の 2 倍 (24.04nM) の IC50 値を示し、外れ値であったが、NA 遺伝子をシーケンスしたところアミノ酸変異は認められなかった。B 型で初診と薬剤治療後 2-4 日再診のペアで採取された株は 8 組あった。IC50 の上昇を示したペアはなく、薬剤投与後に耐性株の出現は無かった (図 11)。

2011-12 シーズンに 1 小児科医院を受診した患児を対象に、オセルタミビルとラニナミビルの治療効果を解熱時間で評価した。0-15 歳の A/H3N2 罹患児 98 人 (Os 33 人、La 65 人)、B 型 299 人 (Os 117 人、La 147 人、無治療群 Non 35 人) を対象とした。カプランマイヤー法で算出した 37.5℃以下への解熱時間 (中央値) は、A/H3N2 で、La 24.0h と Os 32.0h と同じであり統計的な有意差はなかった (P=0.60) (図 12)。

来院時間、性、年齢、ワクチン歴などを補正した多変量解析の Cox 比例ハザードモデルでの解析によると、Os は La より有意に早く解熱していた (Os を基準とした La のハザード比 0.525, P=0.046)。

一方で B 型において解熱時間の中央値はカプランマイヤー法で La 47.0h、Os 57.0h であり、治療した 2 群は、無治療群の 73.0h と比較し有意に早く解熱していた (各 P=0.014, P=0.016) (図 13)。なお、La と Os 群の 2 群では解熱時間に差はなかった (P=0.489)。多変量解析の Cox 比例ハザードモデルでは、無治療群に比べ、Os と La でそれぞれ有意に早く解熱する結果となった (無治療を基準としたハザード比 Os:1.87, La 1.80、それぞれ P=0.008, P=0.008)。

5-10 歳の A/H3N2 型 46 人 (Os 12 人、La 33 人)、B 型 177 人 (Os 79 人、La 83 人、Non 15 人) で同様の治療効果の検討を行った。A/H3N2 型では単変量解析で解熱時間が La 35.0h と Os 24.0h であり、2 群間に差を認めず、多変量解析でも同様の結果であった (図 12)。B 型では、単変量解析の解熱時間の中

央値が La 50.0h、Os 51.0h であり、無治療 77.0h と比較し 2 群とも有意に早く解熱していた (各 P=0.028, P=0.004) (図 13)。Cox 比例ハザードモデルでは、Os で 2.37 倍、La では 2.12 倍、無治療群より早く解熱する結果となった (それぞれ P=0.006, P=0.015)。

0-15 歳の La と Os の解熱時間の等分散性の検定 (Levene の検定) の結果は A/H3N2、B 型ともに等分散 (それぞれ P=0.396, P=0.092) であり、解熱時間の分布は 2 群間で有意差を認めなかった (図 14)。5-10 歳における La と Os の解熱時間の等分散性の検定 (Levene の検定) の結果は A/H3N2 型では等分散 (P=0.069)、B 型では非等分散 (P=0.036) であった (図 15)。このため、B 型の 5-10 歳のグループで、La は Os 治療群に比べて解熱時間のばらつきが大きい可能性が示唆された。

D. 考察

当教室では 2005 年以降、全国の臨床医に依頼し、検体を新潟大学に送付してもらい、インフルエンザウイルス分離培養、型別、遺伝子解析、薬剤耐性の解析を行っている。ウイルスの解析のみならず、小児を中心に NA 阻害剤の薬効も評価している。

当教室の調査では、2011-2012 年シーズンは、A/H3N2 と B 型の混合流行であった。A/H1N1pdm09 は検出されなかった。流行は二峰性で、A/H3N2 のピークが 1 月の下旬に、B 型のピークは遅れて 2 月にみられた。この疫学流行状況やウイルス分離状況は国の感染症発生動向調査の結果とほぼ一致していた。A/H3N2 はほぼ全国的に流行したが、新潟と群馬のみ B 型が主流の流行であった。これは、前シーズンの 2010-2011 年に新潟と群馬では A/H3N2 が流行し、すでに免疫が獲得されていたことが原因と推測される。一方で関西では 2010-2011 年には H1N1pdm09 が主に流行したことが当教室の調査で判明しており、このため A/H3N2 に対する免疫獲得が少なく、結果として 2011-2012 年には関西で A/H3N2 の大きな流行を招いたと考えられる。

ウイルス遺伝子解析の結果、A/H3N2 において、2011-2012 年の流行株は、前シーズンからかなり進化しており、当教室の HAI 試験の結果では、当該シーズンのワクチン株と流行株は 3 管以上の差があり、血清抗原的にずれが生じていたことが判明した。シーケンスの結果、HA 遺伝子に 6 箇所以上のアミノ酸に変異がみられた。特に、A198S と V223I は抗原決定部位と推定されるアミノ酸であり、抗原性の変化に関連したと推測される。我々の抗原性解析の結果は国立感染症研究所や地方衛生研究所の結果と同様であった。世界的な A/H3N2 の進化をうけ、2012-2013 年のワクチン株はクレード 3C の A/Victoria/361/2011 に変更された。当教室ではまだこの新しいワクチン株による血清抗原性を測定していないが、この株は遺伝子的にはクレード 3C に属することから、血清抗原性も 3C と同じと考えられる。シーズンに先駆け、2012 年 9-11 月に日本各地

で採取された A/H3N2 は、クレード 3C に属し、抗原性は 2012-2013 年のワクチン株とほぼ同等と報告されている。このため、2012-2013 年の冬のシーズンの A/H3N2 はワクチン株と抗原性が一致すると予想される。

B 型は血清抗原上、ビクトリア系と山形系の二系統にわかれる。ワクチン株は、流行株にあわせてビクトリア系か山形系のどちらか 1 種類が選択されている。ここ 4, 5 年間の B 型は、ビクトリア系のウイルスが流行しており、ワクチン株もビクトリア系が選択されていた。当教室の解析の結果、2011-2012 年の B 型ビクトリアの流行株の抗原性はワクチン株と一致していた。しかし、世界的には数年ぶりに山形系のウイルスが流行の兆しがある。当教室の調査では山形系は B 型全体の 10% に過ぎなかったが、2011-2012 年の流行の後半で少しずつ数を増してきた。我々の教室ではまだ 2012-2013 年のワクチン株の B/Wisconsin/1/2012 (クレード 3) との抗原性を検討できていない。しかし 2011-12 年に流行した株の遺伝子配列から推測すると、もし 2012-2013 年に山形系が流行すれば B 型では遺伝子変異が少ないのでワクチン株と血清抗原的に一致するものと考えられる。なお、2012 年 9-10 月に日本 (横浜市) で採取された B 型は山形系のクレード 2 のウイルスであった。

NA 阻害剤感受性検査の結果、2011-2012 年の A/H3N2、B 型共に、4 剤の NA 阻害剤 (オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビル) に対し、初診時株は感受性であった。薬剤治療後の株でも耐性の出現は無かった。B 型は一般的に A 型に比べ NA 阻害剤の効きが悪いとされる。NA 阻害試験の結果からは B 型の IC50 値は A 型の 10 倍高く、臨床効果の減弱の原因の一つにあげられる。一般的に A/H3N2 型と B 型は、H1N1pdm09 に比べて NA 阻害剤耐性が出現しにくいと言われており、今回の我々の結果はそれと一致している。

今回の検討では、A/H3N2 型と B 型の初診時株でわずかな外れ値を示す株をみとめた。しかし、数 nM のみの上昇であるため、臨床的には全く問題にならないと考えられる。遺伝子解析の結果、培養株には 151 位や 148 位に変異があったが、オリジナルの臨床検体には認められなかった。MDCK 細胞の培養の際に変異株だけが選択された結果と考えられる。なお、151 位や 148 位はノイラミニダーゼの酵素活性に重要な部位であるため、これらの変異で阻止濃度が上昇するのは理にかなっている。NA 感受性検査がさまざまな研究室で行われ、かつ検査の件数も世界的に増えたことで、このように培養によって選択されてしまった耐性株が問題となっている。現行の検出法では、オリジナル検体の NA 量が少ないために (ウイルス量が少ない) 感受性検査が行えない。このため、ウイルス培養により NA 量を増やすことが必要である。培養株によるバイアスを補うため、オリジナル検体の NA 遺伝子シーケンスを行い変異を確認することが求められる。また、WHO は今後耐性の基準

を改正し、10 倍~100 倍以上に IC50 値が上昇した株を「感受性低下株」とする (B 型では 5 倍または 50 倍) と発表した。軽微な IC50 値上昇は問題にしないとする意向であり、耐性スクリーニングが大きく変わると考えられる。

薬剤効果については、2011-2012 年はオセルタミビルとラニナミビルの 2 剤のみの評価となった。小児では、A/H3N2 と B 型に対する 2 剤の解熱効果は同等であった。この結果は分担研究者の河合等の結果と一致している。0-15 才では差は無かったものの、5-10 歳の B 型でラニナミビルの解熱時間がオセルタミビルに比してばらつきがみられた。小さい子供では、ラニナミビルの特徴である 1 回の吸入がうまくできていない場合があり、医療機関や薬局で十分に吸入を指導すべきであると考えられた。

E. 結論

インフルエンザは遺伝子変異を繰り返し、ワクチン株も毎年変更を余儀なくされている。このため流行株の抗原性解析や遺伝子解析は適正なワクチン株を選ぶために重要である。また、日本ではインフルエンザ罹患後 NA 阻害剤を処方することが一般的である。このために NA 阻害剤耐性が出現した際には効果が大きく減弱することが予測される。2007-2008 年にはオセルタミビル耐性株が世界的に流行し、NA 阻害剤を全く使用していない国でも検出された。このため、薬剤投与後の調査とあわせ、初診時の耐性株モニタリングは重要である。WHO や感染症発生動向調査では、初診時と投与後を区別せずに耐性サーベイランスを行っているが、当教室では臨床医から直接検体を送ってもらっているため、初診と再診を厳密に区別して解析することが可能である。あわせて抗インフルエンザ剤の薬剤効果の評価も毎年行っており、耐性株が出現した際には臨床への影響をすぐに評価することができる。この臨床直結のインフルエンザ耐性調査は、国の感染症発生動向調査や WHO のグローバルサーベイランスではなしえないことであり、日本の臨床医、患者、そして世界的に対して意義が大きいと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Dapat IC, Dapat C, Baranovich T, Suzuki Y, Kondo H, Shobugawa Y, Saito R, Suzuki H; the Japanese Influenza Collaborative Study Group. Genetic Characterization of Human Influenza Viruses in the Pandemic (2009-2010) and Post-Pandemic (2010-2011) Periods in Japan. PLoS One. 7(6):e36455, 2012.
- 2) hobugawa Y, Saito R, Sato I, Kawashima T, Dapat C, Dapat IC, Kondo H, Suzuki Y, Saito

K, Suzuki H. Clinical effectiveness of neuraminidase inhibitors -oseltamivir, zanamivir, laninamivir, and peramivir-for treatment of influenza A(H3N2) and A(H1N1)pdm09 infection: an observational study in the 2010-2011 influenza season in Japan. J Infect Chemother. 18(6), 858-864, 2012.

2. 学会発表

- 1) Saito R, Y Shobugawa, I Sato, T Kawashima, C Dapat, IC Dapat, H Kondo, Y Suzuki, K Saito and H Suzuki. Clinical Effectiveness of Neuraminidase Inhibitors-Oseltamivir, Zanamivir, Laninamivir, and Peramivir - for Treatment of Influenza A(H3N2) and A(H1N1)pdm09. Severe Influenza: Burden Pathogenesis and Management. 29 -31st October, 2012, Hanoi, Vietnam.
- 2) 近藤 大貴、齋藤 玲子、菖蒲川 由郷、齋藤 孔良、Dapat Clyde、Dapat Isolde、佐藤 勇、川島 崇、小林 信之、鈴木 宏. 2009-2012年の3シーズンにおいて本邦で検出されたノイラミニダーゼ阻害剤耐性ウイルスの調査. 第60回ウイルス学会 大阪 2012年11月13-15日.
- 3) Isolde C. Dapat, Reiko Saito, Kousuke Saito, Clyde Dapat, Hiroki Kondo, Hironori Masaki, Shinji Kimura, Hironobu Kobayashi, and Hiroshi Suzuki. Genetic Characterization of human influenza viruses in Japan, 2011-2012. 第60回ウイルス学会 大阪 2012年11月13-15日.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

*日本サーベイランスグループ

北海道：松前町立松前病院 木村眞司先生
新潟：よいこの小児科さとう 佐藤勇先生
群馬：川島内科クリニック 川島 崇 先生
東京： 国立国際医療研究センター 小林信之先生、高崎 仁先生
京都：日比小児科クリニック 日比 成美先生、ふじわら小児科内科医院 藤原 史博先生、生嶋こどもクリニック 生嶋 聡先生、つなもと医院 綱本 健太郎先生
大阪：よしはら小児科クリニック 吉原隆夫先生
兵庫：はしだ小児科 橋田 哲夫先生
長崎：まさき内科呼吸器クリニック 真崎 宏則 先生、白髭内科医院 白髭 豊 先生、医療法人保善会 田上病院 黒木麗喜先生、愛野記念病院 出川 聡先生、十善会病院 麻生憲史先生、おの小児科 小野靖彦先生

表1 2011-2012年シーズンのインフルエンザ分離状況

調査地域	検体数	A型		B型					
		H3N2	A/インフル陽性総数(%)	ビクトリア系統	ビクトリア系統/B合計(%)	山形系統	山形系統/B合計(%)	B合計	B/インフル陽性総数(%)
北海道	50	17	85%	1	33%	2	67%	3	15%
新潟	652	114	25%	330	98%	6	2%	336	75%
群馬	32	8	30%	7	37%	12	63%	19	70%
東京	56	32	80%	5	63%	3	38%	8	20%
京都	300	175	84%	25	78%	7	22%	32	15%
大阪	96	26	100%	0	-	0	-	0	0%
兵庫	70	54	98%	0	-	0	-	0	0%
長崎	137	93	78%	14	52%	13	48%	27	23%
合計	1393	519	55%	382	90%	43	10%	425	45%

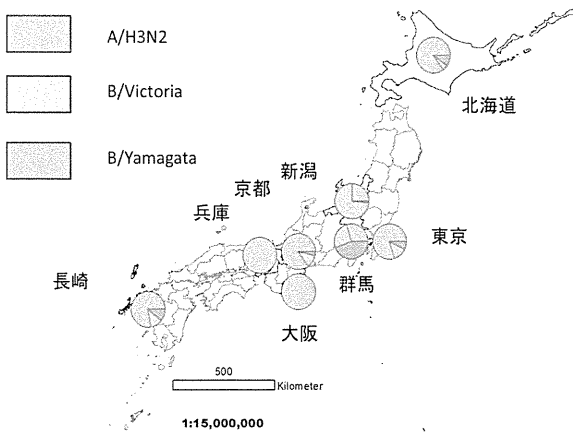


図1. 都道府県別 2011-2012年のインフルエンザ分離割合

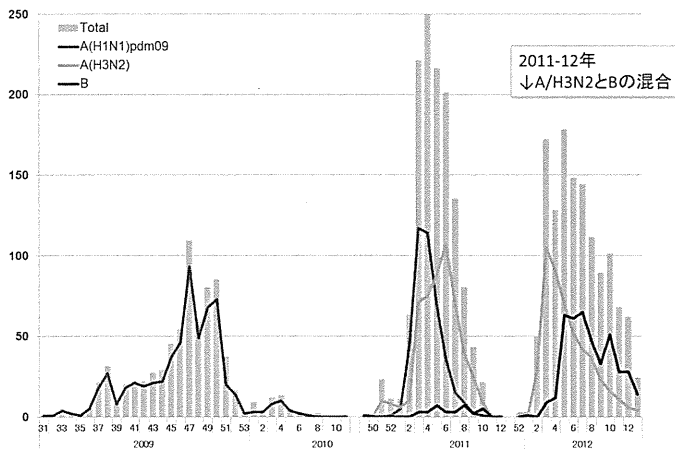


図2 3シーズンの週別検体数、インフルエンザの型・亜型検出数

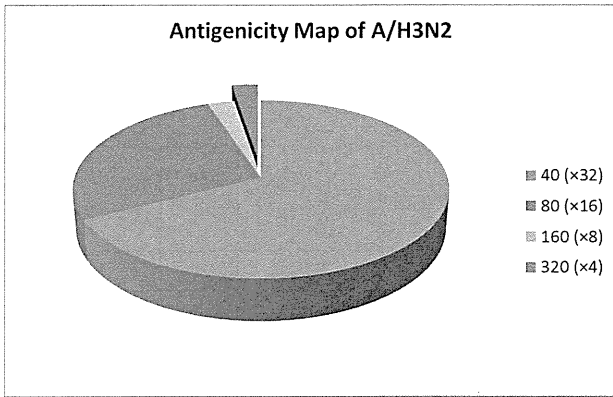


図3 2011-2012年シーズンに採取されたA/H3N2のHAI抗原解析。ワクチン株のA/Victoria/210/2009 (ホモ価 1280倍) に対するHI価の分布を示す。

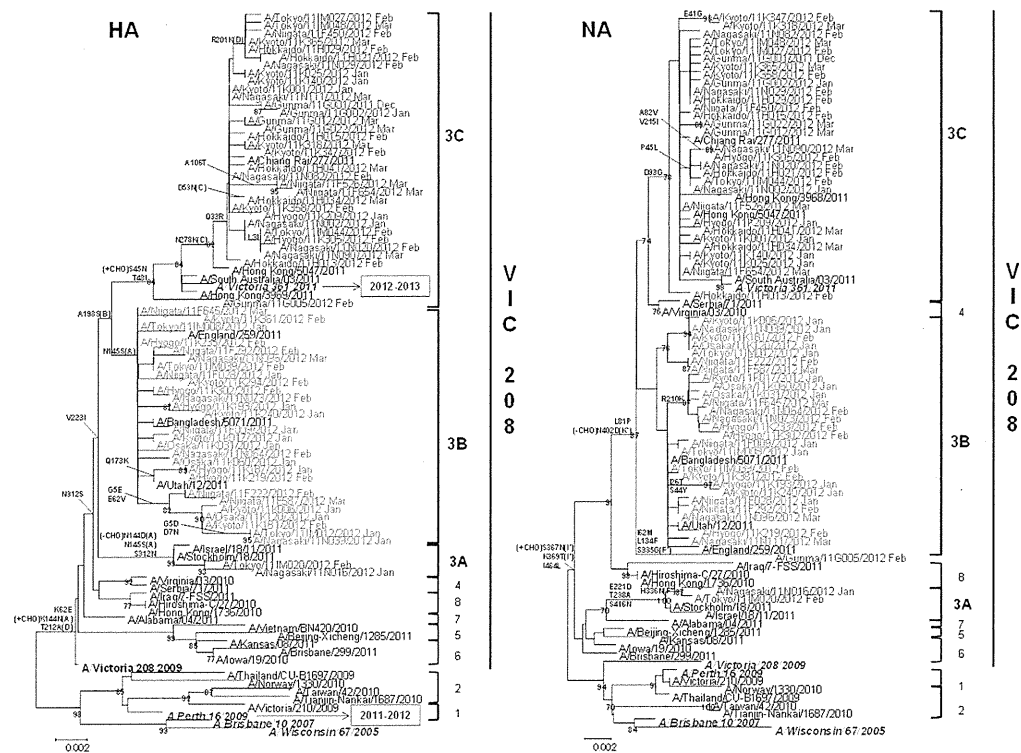


図4. 2011-2012年シーズンに日本各地で採取されたA/H3N2のHA遺伝子およびNA遺伝子解析