

2. 学会発表
 - 1) H. Ikematsu. Clinical Effectiveness of Oseltamivir and Zanamivir from the 2003-2004 to the 2008-2009 Influenza Seasons in Japan. BIT Life Sciences' 2nd Annual World Summit of Antivirals 2009. (Beijing), July, 18th. 2009.
 - 2) 池松秀之. インフルエンザの診断 – 迅速診断キットを中心に-. 第 23 回日本臨床内科医学会 (さいたま市)、2009. 10. 11.
 - 3) 池松秀之. 高齢者インフルエンザ. 第 52 回日本老年医学会学術講演会(神戸市)、2010. 6. 25.
 - 4) 池松秀之. 新型インフルエンザにおける診断キットの有用性とワクチンの効果. 第 24 回日本臨床内科医学会 (金沢市)、2010. 10. 10.
 - 5) 池松秀之. インフルエンザワクチン. 第 80 回日本感染症学会西日本地方会学術集会 (松山市)、2010. 11. 19.
 - 6) 池松秀之. 日本臨床内科医学会「シンポジウム II」. 第 25 回日本臨床内科医学会 (札幌市)、2011. 9. 18.
 - 7) 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.
 - 8) 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.
 - 9) 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経済的影響の検討. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会 (長崎)、2012. 4. 25.
 - 10) 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.
 - 11) 池松秀之. インフルエンザにおける迅速診断キットと HI 抗体価測定の成績. 第 26 回日本臨床内科医学会 (徳島) 2012. 10. 7
 - 12) 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.
 - 13) 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)、2012. 11. 05.

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 インフルエンザウイルスの型・亜型別の内訳

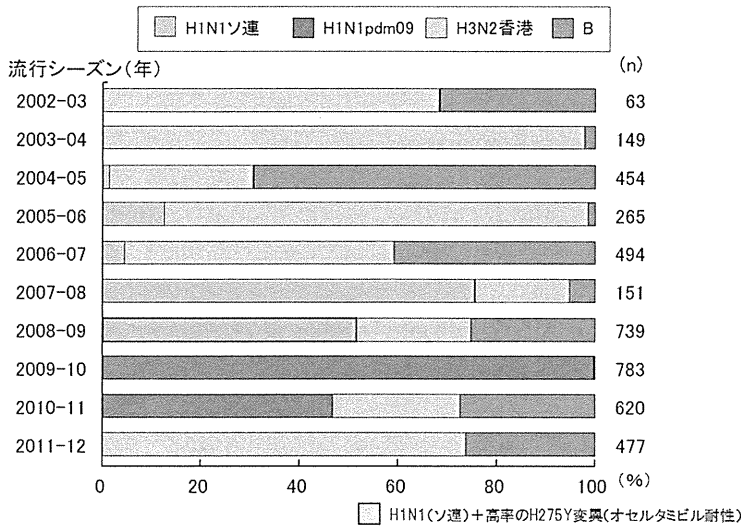


図2. 2 流行期における各年代のA (H3N2) 亜型患者数

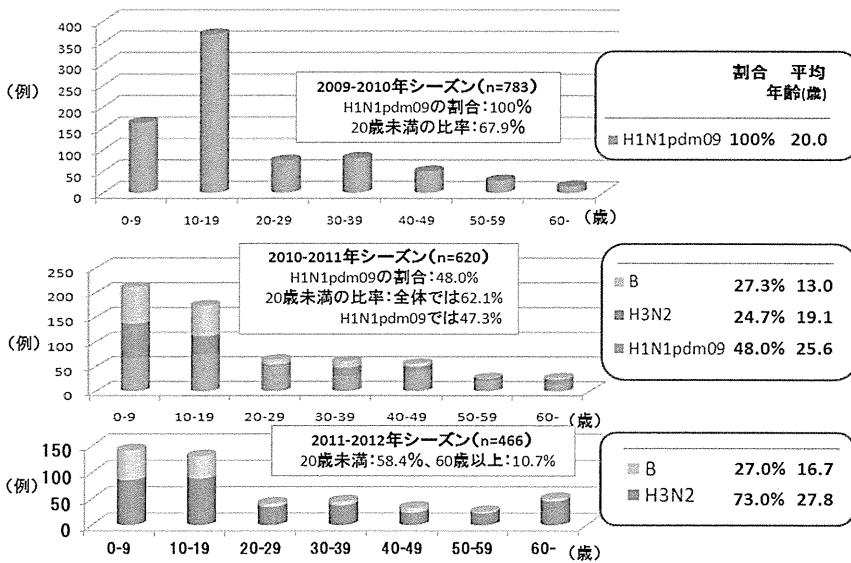
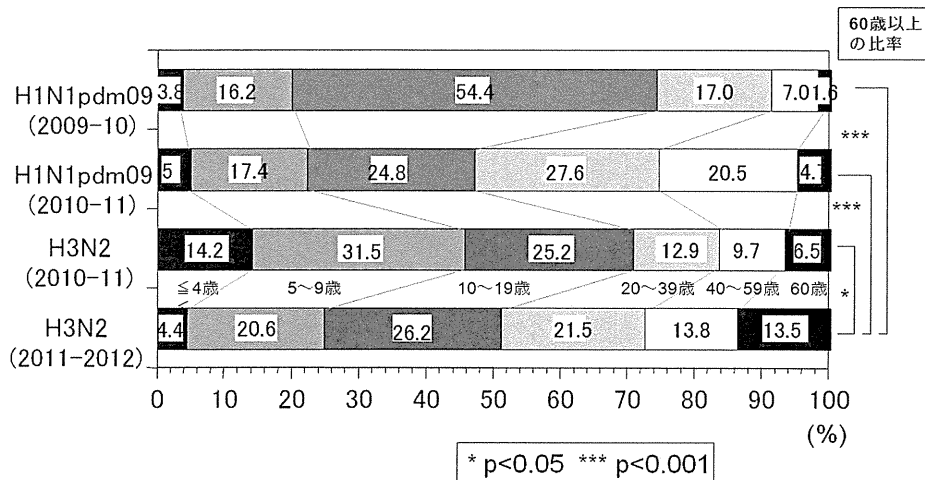


図3. 3 流行期における各亜型の年齢構成



3 シーズンにおける抗インフルエンザ薬の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

2009-2010～2011-2012年シーズンのノイラミニダーゼ（NA）阻害薬の有効性を亜型別、薬剤別に検討したが、特に2010-2011年以降は従来のオセルタミビル、ザナ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り、4剤の有効性について検証した。A型については各NA阻害薬間の有効性は解熱時間やウイルス残存率ではほとんど差がないと考えられた。なおNA阻害薬の有効性は IC_{50} 値とある程度関係する可能性も示唆された。Aソ連型がほぼ100%でH275Y変異しオセルタミビル耐性化した2008-2009年シーズンは同薬の有効性が特に小児で著しく低下したことをわれわれはすでに報告しているが、このような明らかなNA阻害薬の有効性の低下はこの3シーズンに関しては解熱時間、ウイルス残存率等からは示唆されず、今のところ目立った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、今後再び日本で流行しかつ耐性化が進む可能性もあり、今後も慎重に見守る必要がある。

A. 研究目的

2009-2010年に出現したパンデミックウイルス（H1N1pdm09）とその後復活したH3N2およびB型ウイルスを対象として、従来のノイラミニダーゼ（NA）阻害薬のオセルタミビル、ザナミビルおよび2010年から使用可能になったペラミビルとラニナミビルについて有効性を検証した。またさらに2008-2009年シーズンに大きな社会的な問題となったNA阻害薬の耐性化も目が離せない状況にあり、この耐性化の動向とNA阻害薬の有効性との関係についても IC_{50} 値等と比較し検討した。

B. 研究方法

過去3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(H1N1)pdm09、A(H3N2)、Bの3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 $37.4^{\circ}C$ 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 日に再度ウイルスが検出された症例数の割合）を検討した。

（倫理面への配慮）

各研究における登録基本データは、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を対象とした。

C. 研究結果

①最終の2011-2012年シーズンにおける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同じく最終の2011-2012年シーズンについて図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。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H1N1ソ連型、同pdm09型も含めて図4に示す。この図より、オセルタミビルはほぼ100%のAソ連型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。この解熱時間は IC_{50} 値が低値の薬剤感受性が高い群では短く、 IC_{50} 値が高値の薬剤感受性が低い群では長い傾向にあることが図5の2010-2011年シーズンのデータから示唆された。

ウイルス残存率はH3N2型では全年齢で10～10数%と低く、薬剤間の差は少なかった。なおB型のウイルス残存率は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、2010年以降ペラミビルとラニナミビルが加わったことにより選択肢

が増えたが、一部の年齢層で使用しやすい薬が限られている現状は示された。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っている。また60歳以上の高齢者もオセルタミビルが中心であったが、その他の年齢層ではいずれの薬剤も広く使われつつある。

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。

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。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

過去3シーズンにおいては、かつて2008-2009年シーズンに流行したAソ連型のようなNA阻害薬に対する耐性を獲得したウイルスの流行を示唆するような解熱時間やウイルス残存率のデータは得られず、池松らのIC₅₀等から得られた耐性化率は現状では低いとする報告と一致した。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、廣津伸夫、池松秀之．インフルエンザ診療マニュアル2010-2011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 25 巻 2 号臨時付録，2010．
- 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2011-2012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 26 巻 2 号臨時付録，2011．
- 3) 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．

- 4) Kawai N，Ikematsu H，Tanaka O，Matsuura S，Maeda T，Yamauchi S，Hirotsu N，Nishimura M，Iwaki N，Kashiwagi S．Comparison of the clinical symptoms and the effectiveness of neuraminidase inhibitors for patients with pandemic influenza H1N1 2009 or seasonal H1N1 influenza in the 2007-2008 and 2008-2009 seasons．J Infect Chemother．2011;17:375-81．
- 5) Kawai N，Ikematsu H，Iwaki N，Kondou K，Hirotsu N，Kawashima T，Maeda T，Tanaka O，Doniwa K，Iwakuni O，Egashira K，Yamaji K，Kashiwagi S．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;18:180-6．
- 6) 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．2013; 7(3):448-455．

2. 学会発表

- 1) 河合直樹 他．インフルエンザ A(H1N1) ウイルス感染症の臨床的検討—新型、ソ連型（オセルタミビル非耐性、耐性）の比較．第 84 回日本感染症学会学術講演会、京都、2010 年 4 月．
- 2) 河合直樹．新型インフルエンザの流行状況とワクチン、ノイラミニダーゼ阻害薬の有用性について．第 24 回日本臨床内科医学会．シンポジウム「日臨内インフルエンザ研究 2009-10 の成果」．金沢、2010 年．
- 3) 河合直樹．IT を活用したインフルエンザ調査研究—岐阜県リアルタイムサーベイランスと日本臨床内科医会インフルエンザ研究—．シンポジウム「2009 年 H1N1 対策～インフルエンザ対策 2009 年 4 月からの総括」．第 26 回日本環境感染症学会総会、横浜、2011 年 2 月．
- 4) 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 25 回日本臨床内科医学会、札幌、2011 年 9 月．
- 5) 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．
- 6) 河合直樹．インフルエンザの流行状況と治療の現状—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 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

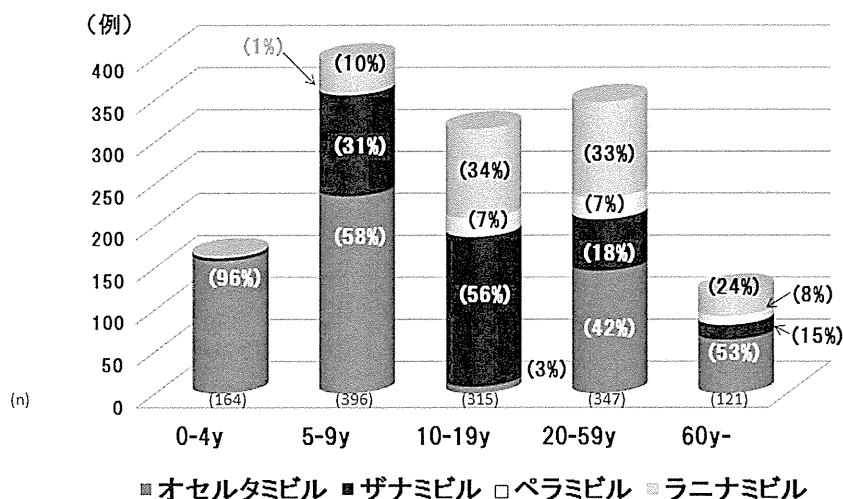


図2 2011-2012年シーズンのA、B型における解熱時間（投与開始～解熱）

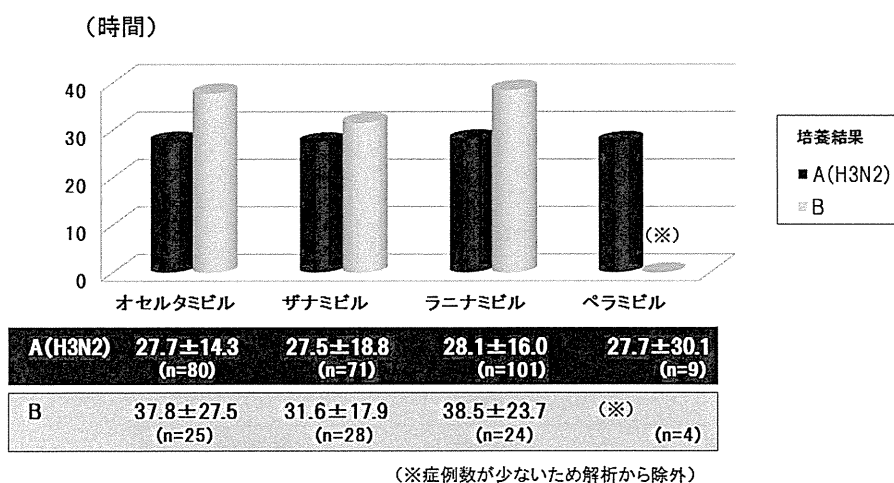
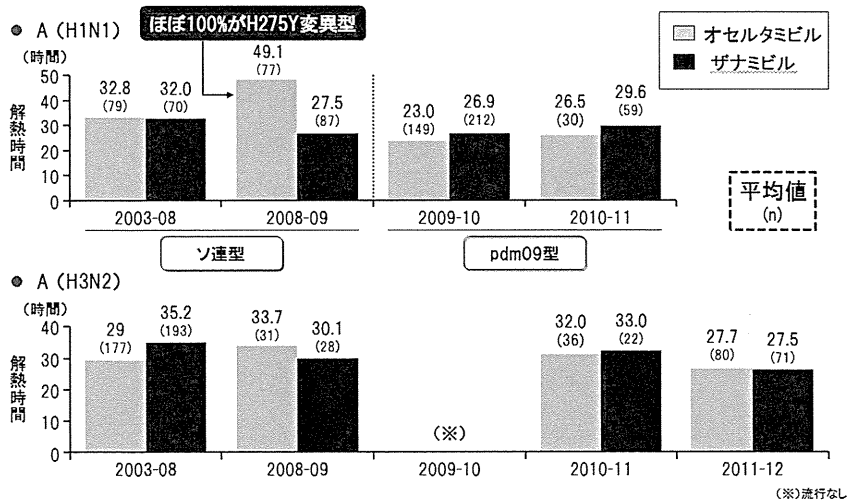


図3 2003-2004年5シーズン以降のオセルタミビル、ザナミビル投与後の平均の解熱時間の推移



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

図4 各亜型における平均の解熱時間と IC50 (2010-2011年シーズン)

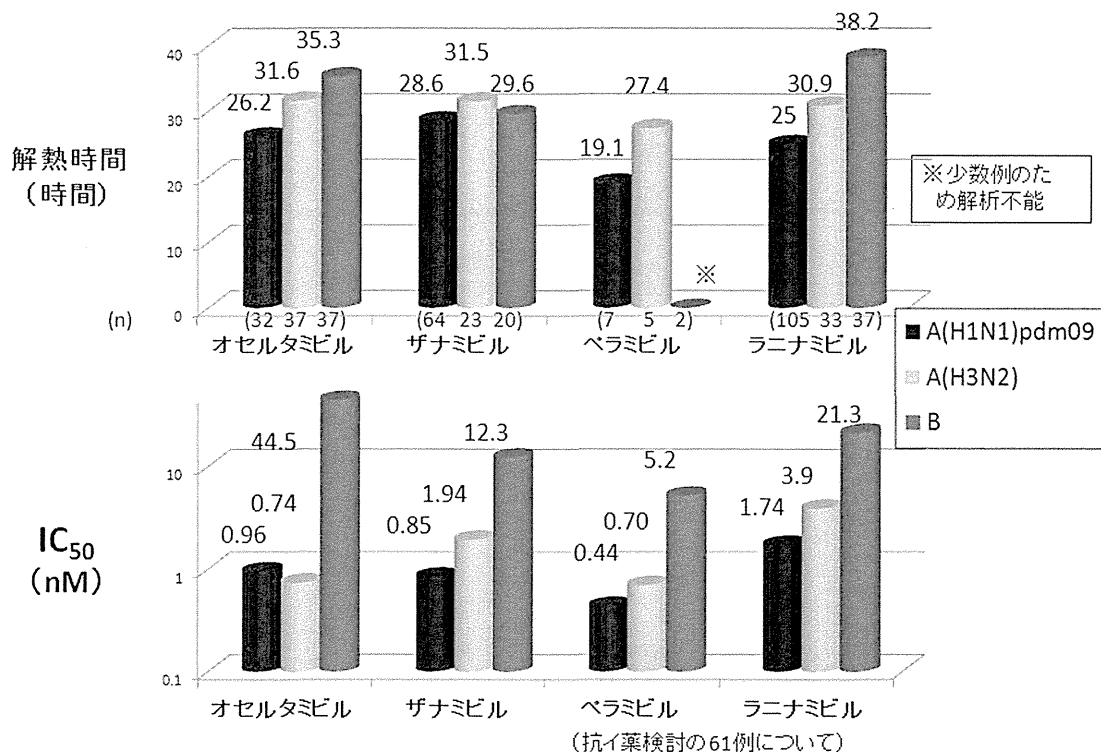


表1 各薬剤投与開始5±1日目のウイルス残存率 (2011-2012年シーズンの養法による)

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)
	ペラミビル	— (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。

3 シーズンにおけるインフルエンザウイルス遺伝子解析、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教授（公衆衛生）
研究協力者	クライド・ダパット	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・ダパット	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
	鈴木康司	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
	日本サーベイランスグループ*	

研究要旨

本研究では、2009-2010、2010-2011、2011-2012 年の 3 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株の遺伝子抗原性解析、薬剤耐性の出現状況、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 9 都道府県の医療機関にインフルエンザ様疾患で受診した患者の臨床検体 3404 件から、A/H1N1pdm09 1033 件、A/H3N2 1007 件、B 型 457 件のインフルエンザウイルスを分離した。ウイルス遺伝子解析の結果から、A/H1N1pdm09 は 2009-2010（1 年目）、2010-2011 年（2 年目）の 2 シーズンに流行し、Cluster 2 に属した。A/H3N2 は、2010-2011（2 年目）、2011-2012 年（3 年目）の 2 シーズンに流行し、2 年目の株は A/Perth16 系統と、A/Victoria208 の二つの系統が見られた。3 年目の株は A/Victoria208 系統に属したが 2 年目に比べ進化していた。B 型インフルエンザは、2 年目、3 年目の 2 シーズンに流行し、それぞれ、ビクトリア系と山形系のウイルスが混合流行した。3 年間に採取されたインフルエンザ 442 株を選び、4 剤の NA 阻害剤に対する薬剤感受性試験を行った。A/H1N1pdm09 は、1 年目に 1 件が 4 剤全てにわずかに感受性が低下（～10nM）する NA 蛋白 M241I 変異を持っていた。2 年目には薬剤投与歴のない患者から 2 件（3.3%）オセルタミビルとペラミビルに 200-300 倍の感受性低下した株が検出され NA 蛋白に H274Y 変異をみとめた。治療後にはオセルタミビル投与後、1 年目の検体の 17%に、2 年目の検体 40%に H274Y 変異によるオセルタミビル・ペラミビル耐性株が出現していた。A/H3N2 と B 型では初診時と薬剤投与後共に耐性は出現しなかった。2 年目、3 年目に小児における NA 阻害剤の効果を臨床的に検討した。2 年目は A/H3N2 罹患児 211 名で 4 剤の臨床効果を検討したところ、ペラミビルの解熱が早く、オセルタミビル、ザナミビル、ラニナミビルの 3 剤の解熱時間はほぼ同じであった。3 年目は、15 歳以下の小児の A/H3N2 98 例、B 型 300 例対してオセルタミビル又はラニナミビルで治療した際の解熱効果を比較した。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に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、耐性株が出現した際の治療への影響を検討してきた。これまで、我々の調査で 2008-2009 年シーズンにはオセルタミビル耐性株に対してオセルタミビル治療をした際には治療効果が減弱することが我々の調査で判明した。一方で 2009-2010 年にパンデミックを起こした新型インフルエンザ A/H1N1pdm09 は NA 阻害剤に対して感受性株であったことも見いだした。

今回、我々は 2009-2010、2010-2011、2011-2012 年の 3 シーズンの本邦に於ける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

2009-2010 年から連続した 3 シーズンに 9 府県（北海道、福島、新潟、群馬、東京、京都、大阪、兵庫、長崎）の 19 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。

各地域から均等に培養株を選び、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) 遺伝子のシークエンスを行い、ワクチン株との遺伝子近縁性について樹形図解析を行い検討した。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すべて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 NA 遺伝子シークエ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、ザナミビル Za、ラニナミビル Lan、ペラミビル Per 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。2011-2012 年シーズンは、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、さらに等分散性の検定 (Levene の検定) を行った。また年齢別の 0-15 歳と、5-10 歳のサブグループ解析も行った。

(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ている。

C. 研究結果

3 シーズンに 9 府県の病院または医院から 3404 件の臨床検体が採取された。A/H1N1pdm09 1033 件、A/H3N2 1007 件、B 型 457 件のインフルエンザウイルスが分離された (表 1)。2009-10 年シーズン (1 年目) は A/H1N1pdm09 のみ、2010-2011 年シーズンは A/H1N1pdm09 と A/H3N2 と B 型の混合流行で特に A 型の流行度合いが大きかった (2 年目)。2011-2012 年は A/H3N2 と B 型の混合流行であった (3 年目) (図 1)。

A/H1N1pdm09 は 1 年目、2 年目の 2 シーズンに流行した。HA 遺伝子と NA 遺伝子は樹形図解析上、Cluster2 に属し、1 年目に比べ 2 年目のウイルスは HA 遺伝子、NA 遺伝子共に進化していた (図 2)。2 シーズンの株はそれぞれ遺伝子配列ではワクチン株の A/California/07/2009 とかなり離れていたが、別途行った血清抗原性解析の結果、ワクチン株と抗原

性は一致していた。

A/H3N2 は、2 年目、3 年目) の 2 シーズンに流行した。2 年目のウイルスの HA 遺伝子と NA 遺伝子は、樹形図解析上 Perth16 系統と Victoria208 系統の 2 系統に分かれた (図 3)。3 年目のウイルスは全て Victoria208 系統に属した。3 年目のシーズンのワクチン株は 1 年前の Perth16 系統のウイルスであったため、別途行った血清抗原性解析では 3 年目の約 9 割のウイルスがワクチン株と一致していなかった。なお、2012-2013 年のワクチン株は Victoria208 系統のクレード 3C から選ばれている。

B 型インフルエンザは 2 年目、3 年目の 2 シーズンに流行した。それぞれ、ビクトリア系統と山形系のウイルスの二系統がみられたが、数の上でビクトリア系が多数を占めた (9 割以上)。ワクチン株は 2 シーズン共にビクトリア系の Brisbane60 系統のウイルスが使われたため、流行株とワクチン株はほぼ一致していた (図 4)。

本邦では、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 阻害剤がインフルエンザの治療に使用されている。各地から選んだ 442 株について NA 阻害剤に対する感受性試験を行った。それぞれ、A/H1N1pdm09 株は 134 株 (うち再診株は 17 株)、A/H3N2 は 224 株 (うち再診株は 18 株)、B 型は 84 株 (うち再診株は 9 株) であった (表 2)。

A/H1N1pdm09 の初診時株では、2009-2010 年には 0 件 (0%)、2010-2011 年には 2 件 (3.3%) がオセルタミビルとペラミビルに対して 200-300 倍程度の薬剤濃度の上昇を示し、耐性株であった (図 5)。これらの株はザナミビルとラニナミビルに対して阻止濃度の上昇はなく感受性であった。なお、この株は、NA 蛋白 274 位に変異 (His→Tyr) を有していた。別途、リアルタイム PCR を用いて 2 シーズンの全ての A/H1N1pdm09 に対して NA 蛋白の H274Y 変異をスクリーニングした。2009-2010 年は 0% (0/601 件)、2010-2011 年には 0.48% (2/414 件) の H274Y 変異が見つかった。この頻度は国立感染症研究所が発表した感染症サーベイランスにおける日本の薬剤耐性頻度と一致している。薬剤を投与した H1N1pdm09 ペア検体では、オセルタミビル投与後に 2009-2010 年には 17% (1/6 件)、2010-2011 年には 40% (2/5 件) に H274Y 変異をもつ薬剤耐性株が出現していた (図 6)。ラニナミビル投与後 (3 件) に薬剤耐性の出現はなかった。

A/H3N2 は初診時 (10/11 年 59 件、11/12 年 147 件)、および薬剤投与後 (オセルタミビル 13 件、ザナミビル 1 件、ラニナミビル 2 件)、共に高度の薬剤耐性株の出現はなかった (図 7、図 8)。

B 型も同様に、初診時 (10/11 年 18 件、11/12 年 54 件)、および薬剤投与後 (オセルタミビル 2 件、ザナミビル 7 件) に薬剤耐性株の出現はなかった (図 9、図 10)。

なお、グラフ中に見られるようにそれぞれのシーズンと型・亜型で軽度の「外れ値」を示す株が数株ずつ見つかったため、NA シークエンスを行い責任変異を特定した。H1N1pdm09 では 4 剤に対して IC50 値が軽度上昇する I222T 変異が見られた (オセルタミビルで 10nM 程度) (図 5)。H3N2 では、D151G 変異株、148T/I 変異株によりそれぞれわずかな IC50 値の上

昇がみられた (図7)。

2010-2011年にA/H3N2に罹患した15歳以下の小児211名に対して4種類のNA阻害剤で治療を行った際の解熱時間を比較した。治療群の内訳は、オセルタミビル群104名、ザナミビル94名、ラニナミビル9名、ペラミビル4名であった。治療開始(初診)から37.5度までの解熱時間を治療群ごとにKaplan-Meier曲線を描出し、Log rankテストで各群の有意差を検定した。結果として、ペラミビルの解熱が17.0時間と最も早く、オセルタミビルに対して有意に有熱時間が短かった(図11)。なお、ペラミビルの症例数が少ないせい($n=4$)、ザナミビルまたはラニナミビルに対して有意差は認めなかった。

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(O_s 33人、 La 65人)、B型299人(O_s 117人、 La 147人、無治療群 Non 35人)を対象とした。 Kaplan-Meier法で算出した37.5°C以下への解熱時間(中央値)は、A/H3N2で、 La 24.0hと O_s 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、 O_s は La より有意に早く解熱していた(O_s 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Kaplan-Meier法で La 47.0h、 O_s 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 O_s 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、 O_s 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 $O_s:1.87$, La 1.80、それぞれ $P=0.008$, $P=0.008$)。

5-10歳のA/H3N2型46人(O_s 12人、 La 33人)、B型177人(O_s 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 O_s 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、 O_s 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、 O_s 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 O_s 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 O_s 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 O_s 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

我々は3年間にわたり日本各地の臨床医に依頼して、インフルエンザ検体を採取し、分離したインフルエンザウイルスの分析と臨床経過の解析を行った。ウイルス型別は、1年目がパンデミックの流行年で、検出されたウイルスは全てA/H1N1pdm09であった。2年目はA/H1N1pdm09、A/H3N2、B型の混合流行で、3年目はA/H3N2とB型の混合流行であった。これらの結果は国立感染症研究所の発生動向調査と一致した。ウイルス遺伝子解析を行い、ワクチン株との相違を検討したところ、A/H1N1pdm09は2シーズン続けて段階的に進化しており、遺伝子上はワクチン株とは異なるグループに属していた。しかし、別途施行した血清抗原性解析ではワクチン株と一致していた。A/H3N2は2年目と3年目に検出され、進化はA/H1N1pdm09以上に大きく、抗原性の変化を伴っていた。このため、結果的には3年目のウイルスはワクチン株と抗原性がずれていた。B型は2年目、3年目に検出されビクトリア系優位の流行であった。このビクトリア系の流行株はワクチン株と一致していた。山形系のB型も少数ながら検出され、特に2年目に比して3年目は割合が増加傾向にあった。このため、ワクチン株にビクトリア系のウイルスが指定されていたが、2012-2013年のワクチン株は山形系のウイルスに変更となった。我々の調査の結果は国立感染症研究所インフルエンザセンターに報告しており、日本のインフルエンザワクチン株の選定に貢献している。

抗インフルエンザ剤の薬剤耐性は、薬剤の効果を減弱させてしまうため、臨床的に大きな問題である。世界的には2007-2009年にオセルタミビル耐性H1N1pdm09が流行し、薬剤耐性モニタリングに対する関心が一気に高まった。国内外では、WHOや日本の国立感染症研究所が主導し、薬剤耐性サーベイランスを行っている。しかし、臨床情報を伴わない場合が多く、薬剤耐性の臨床への影響を検討するには不向きである。また、薬剤耐性の検出は特殊な検査系と技術の熟練を要するため、検査できる施設は国内でも限られているのが現状であり、当教室は外部委託せず独自に耐性株の検出ができ、さらに臨床経過を臨床医から直接回収し、あわせて解析できる大きなアドバンテージをもつ。我々の3年間のサーベイランスの結果から、耐性の流行が懸念されていたA/H1N1pdm09ではオセルタミビル耐性の頻度は0-0.5%とまだ低いことが判明した。この結果はWHOや国立感染症研究所の調査と一致していた。しかし、パンデミックの1年目に比して2年目には頻度がわずかに増加しており、最近のオーストラリアWHOグループの報告では、2011年夏に局地的にオセルタミビル耐性株が流行したこと、耐性が流行しやすくなる補助的変異(V241I, N386S)がすでにNA蛋白に存在していることが報告された。なお、A/H3N2とB型では、耐性は出現しておらず、H1N1pdm09でも耐性の頻度は低いことから、現在流行しているインフルエンザに対してNA阻害剤は感受性であると言える。

本調査では、NA阻害剤の薬剤効果について検討した。日本では、これまで使われていた2薬剤(オセルタミビルとザナミビル)に加え、2010年にあらた

にペラミビルとラニナミビルが保険適応となったため、4 剤の臨床効果の相違が大きな関心を引いた。結果として、小児では A/H3N2 に対して、4 剤のなかでペラミビルの解熱が最もはやい可能性が示唆された。他の 3 剤の解熱時間に差は無かった。翌シーズンにラニナミビルとオセルタミビルの 2 剤の効果を小児で検討したところ、二剤の解熱時間に差を認めなかった。しかし、ラニナミビルでは、5-10 才の小さい子供で解熱時間のばらつきが生じている可能性があった。これは、ラニナミビルが 1 回吸入で治療が完結することから、小児では吸入がうまくいかず、効果のよくなる子がいると推測された。ペラミビルは静注であるため、外来での投与が難しい場合も多い。今回、我々の検討ではペラミビルの例数が少なかったため、統計的な確かさにややかけている。今後例数を増やして臨床効果を確認する必要がある。総論として、新規 2 薬剤は、既存 2 薬剤に対して同等の効果を持っていると考えられた。4 剤の NA 阻害剤はそれぞれに特徴があるため、臨床医は患者の状態と適応を考えながら薬剤を選択していく必要がある。

E. 結論

インフルエンザは流行するウイルスの抗原性が毎年変化するためワクチン株を変更する必要がある。そのため、サーベイランスの充実は非常に重要である。NA 阻害剤で治療することにより、病期の短縮や重症化が予防できると考えられるが、一方で耐性の出現の問題も生じている。このため、一層のサーベイランスの充実が望まれるが、その際には、臨床情報を確実に入手してラボの情報とあわせて解析する必要がある。本研究班は、日本で唯一その役割を果たしてきており、本研究班からの論文がもとになり WHO の薬剤耐性の基準が決定された。このように我々の調査が世界的に評価されていること、そして抗インフルエンザ剤を世界で最も消費している国として、NA 阻害剤の臨床研究を続けることが、非常に重要であると考えられる。今後、何らかの形で研究班が再開されることを切望する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

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) Shobugawa 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.

- 3) 3. Oguma T, Saito R, Masaki H, Hoshino K, Zaraket H, Suzuki Y, Caperig-Dapat I, Dapat C, Baranovich T, Kuroki R, Makimoto Y, Shirahige Y, Asoh N, Degawa S, Ishikawa H, Kageura H, Hosoi M, Suzuki H. Molecular characteristics of outbreaks of nosocomial infection with influenza A/H3N2 virus variants. *Infect Control. Hosp Epidemiol*. 32(3):267-75. 2011.
- 4) Suzuki Y, Saito R, Sato I, Zaraket H, Nishikawa M, Tamura T, Dapat C, Caperig-Dapat I, Baranovich T, Suzuki T, Suzuki H. Identification of oseltamivir resistance among pandemic and seasonal influenza A (H1N1) viruses by an His275Tyr genotyping assay using the cycling probe method. *J Clin Microbiol*. 49(1): 125-30. 2011.
- 5) Dapat C, Suzuki Y, Kon M, Tamura T, Saito R, Dapat IC, Yamazaki O, Odagiri T, Fujisaki S, Suzuki H. Phylogenetic analysis of an off-seasonal influenza virus A (H3N2) in Niigata, Japan, 2010. *Jpn J Infect Dis*. 64(3):237-41. 2011.
- 6) Zaraket H, Saito R, Suzuki Y, Suzuki Y, Caperig-Dapat I, Dapat C, Shabana II, Baranovich T, Suzuki H. Genomic events contributing to the high prevalence of amantadine-resistant influenza A/H3N2. *Antivir Ther*. 15(3):307-19. 2010.
- 7) Saito R, Sato I, Suzuki Y, Baranovich T, Matsuda R, Ishitani N, Dapat C, Dapat IC, Zaraket H, Oguma T, Suzuki H. Reduced effectiveness of oseltamivir in children infected with oseltamivir-resistant influenza A (H1N1) viruses with His275Tyr mutation. *Pediatr Infect Dis J*. 29(10): 898-904, 2010.
- 8) Baranovich T, Saito R, Suzuki Y, Zaraket H, Dapat C, Caperig-Dapat I, Oguma T, Shabana II, Saito T, Suzuki H; Japanese Influenza Collaborative Study Group. Emergence of H274Y oseltamivir-resistant A(H1N1) influenza viruses in Japan during the 2008-2009 season. *J Clin Virol*. 47(1):23-8, 2010.
- 9) Zaraket H, Saito R, Suzuki Y, Baranovich T, Dapat C, Caperig-Dapat I, Suzuki H. Genetic makeup of amantadine-resistant and oseltamivir-resistant human influenza A/H1N1 viruses. *J Clin Microbiol*. 48(4): 1085-92, 2010.

学会発表

- 1) 鈴木康司、齋藤玲子、佐藤勇、川島崇、日比成美、藤原史博、生嶋聡、橋田哲夫、石谷暢男、小熊妙子、山口正浩、Clyde Dapat、Isolde Dapat、鈴木貴子、近藤大樹、鈴木宏. オセルタミビル (Os) 感受性季節性 H1N1、Os 耐性季節性 H1N1、及び Os 感受性新型 H1N1 に対するノイラミニダーゼ阻害剤の解熱効果. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月.
- 2) Isolde C. Dapat, Tatiana Baranovich, Yasushi Suzuki, Clyde Dapat, Reiko Saito, Hiroshi Suzuki, and the Japanese Influenza Collaborative Study Group. Circulation of human influenza viruses in the pandemic (2009-2010) and post-pandemic (2010-2011) seasons. XV International Congress of Virology. 11-16 September, 2011, Sapporo, Japan.
- 3) R Saito, 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.
- 4) 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.
- 5) 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

*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、福島：有隣病院 飯塚卓先生、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 3シーズンの臨床検体数とインフルエンザウイルス分離株（初診・再診別）

シーズン	総検体数	A/H1N1pdm09		A/H3N2		B		合計
		初診時	再診時	初診時	再診時	初診時	再診時	
2009-10	733	601	10	—	—	—	—	611
2010-11	1278	414	8	524	4	33	1	984
2011-12	1393	—	—	454	25	414	9	902
合計	3404	1015	18	978	29	447	10	2497

図1 2009-10年～2011-12年の3シーズンのインフルエンザ流行型・亜型（当教室調査）

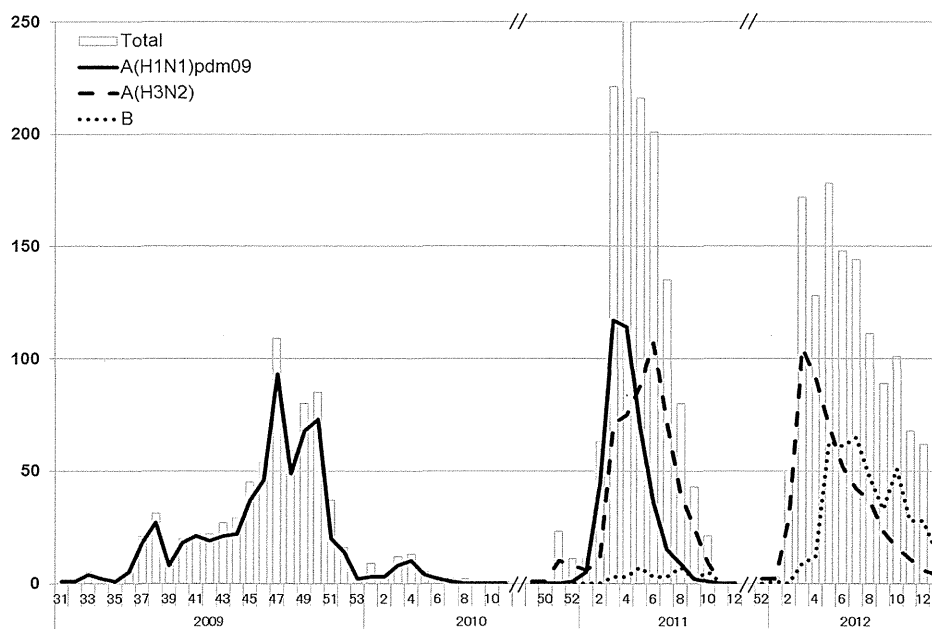


図2 2009-2010年、2010-2011年に採取されたA/H1N1pdm09株の樹形図解析

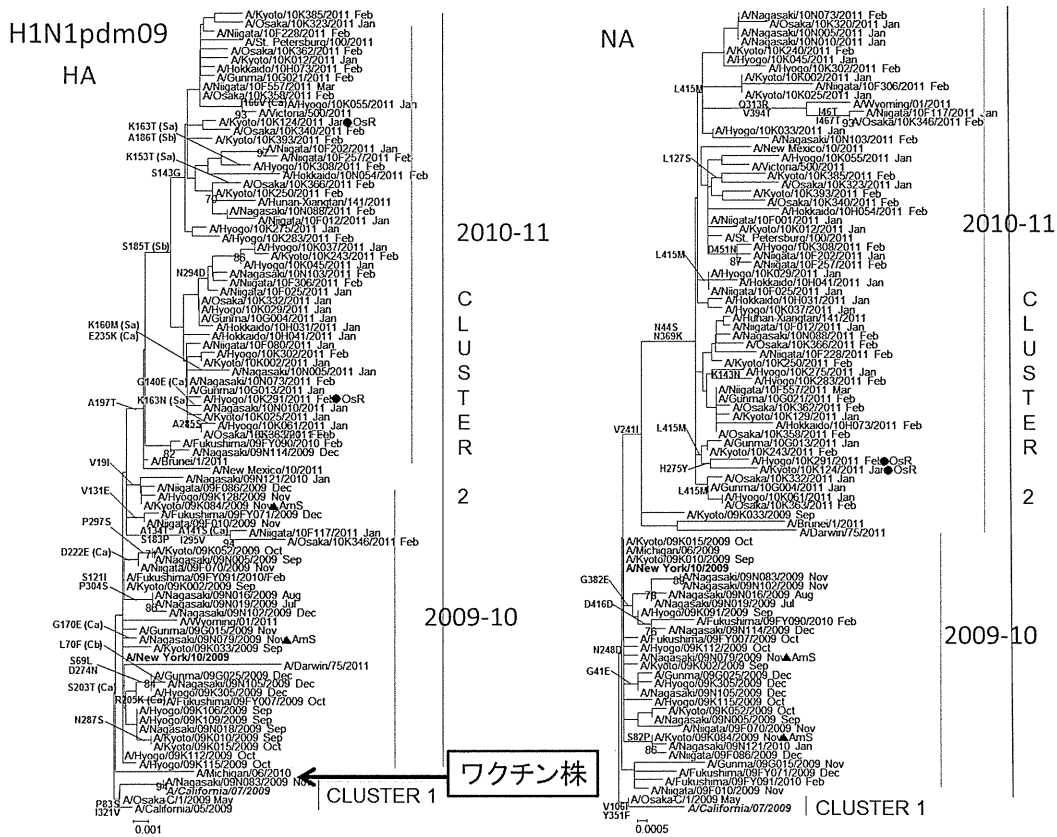


図3 2010-2011、2011-2012年シーズンに流行したA/H3N2

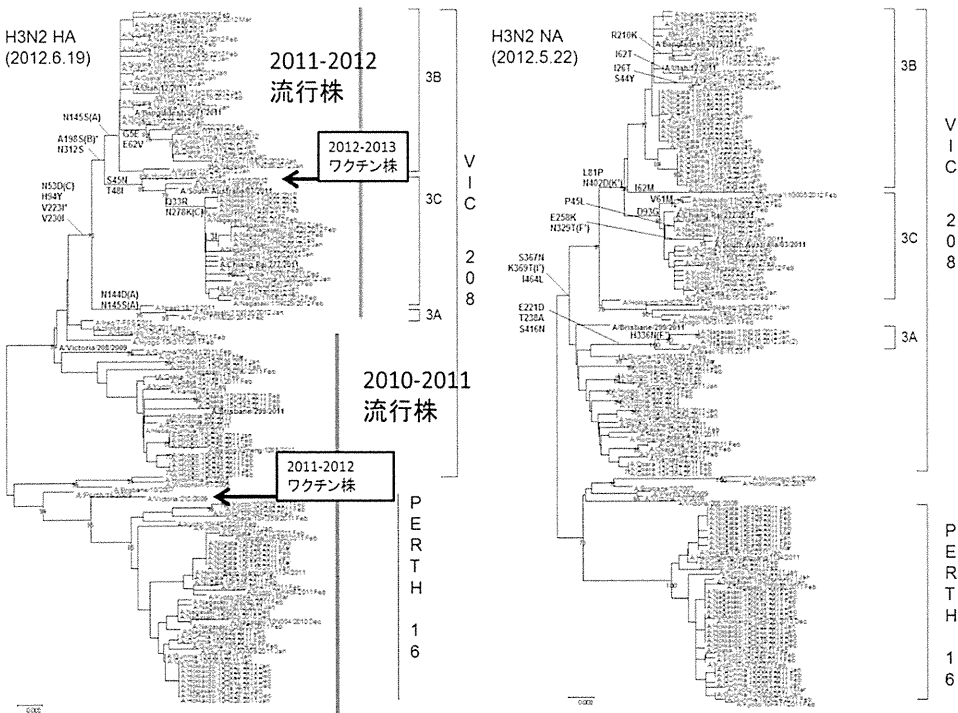


図4 2010-2011、2011-2012年シーズンに流行したB型

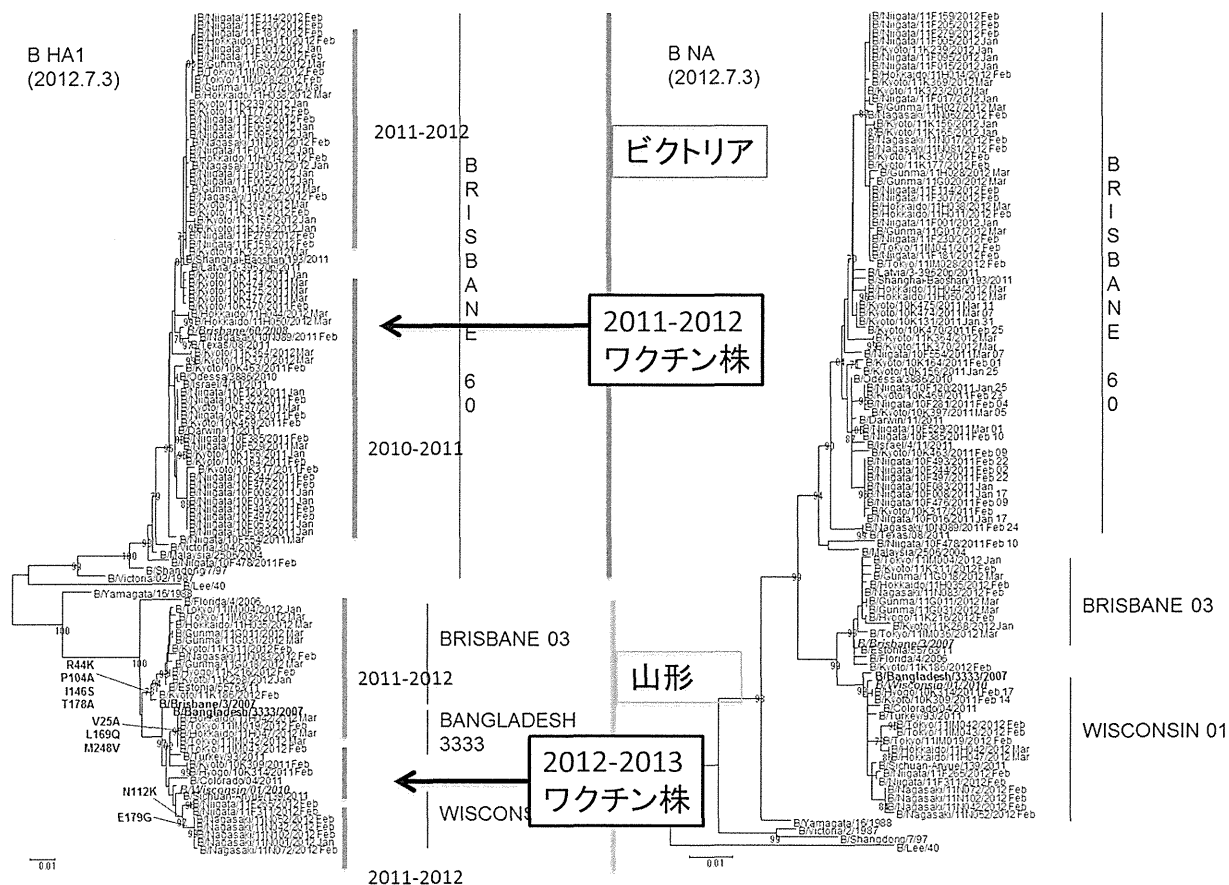


表2 NA阻害試験を施行したインフルエンザの型・亜型の内訳

	A/H1N1pdm09		A/H3N2		B		合計
	初診時	再診時	初診時	再診時	初診時	再診時	
2009-10	57	9	—	—	—	—	66
2010-11	60	8	59	0	18	1	146
2011-12	—	—	147	18	57	8	230
合計	117	17	206	18	75	9	442

図5 初診時に採取された H1N1pdm09 に対する NA 阻害剤薬剤感受性試験

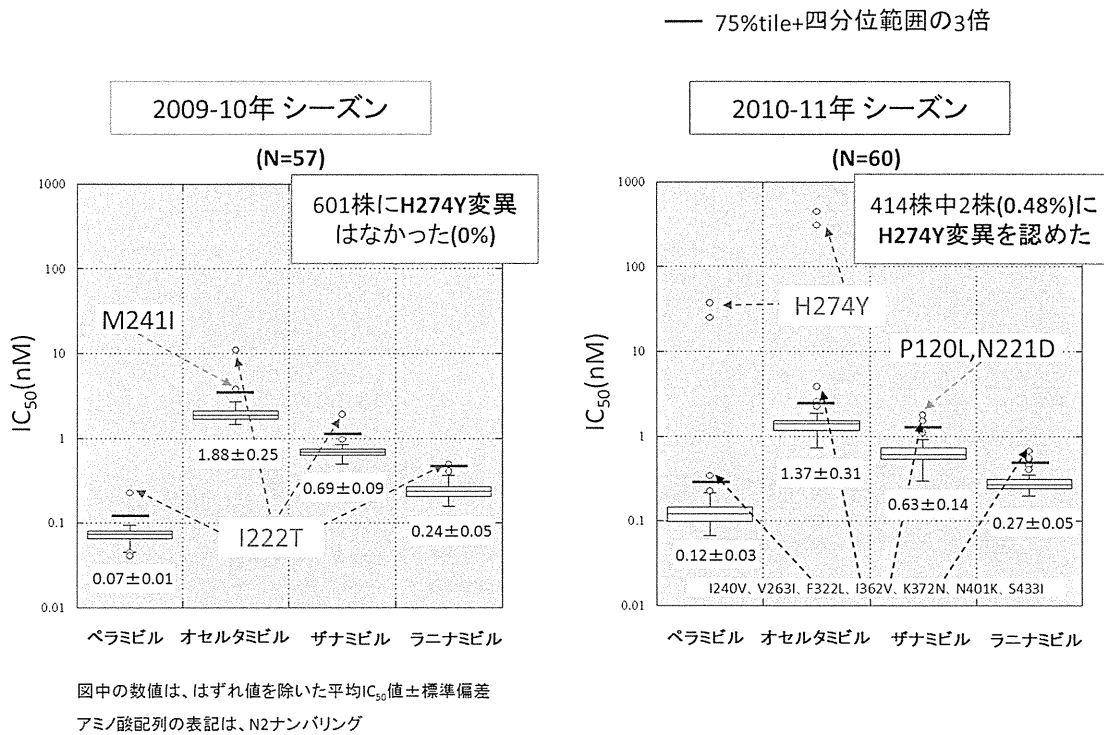
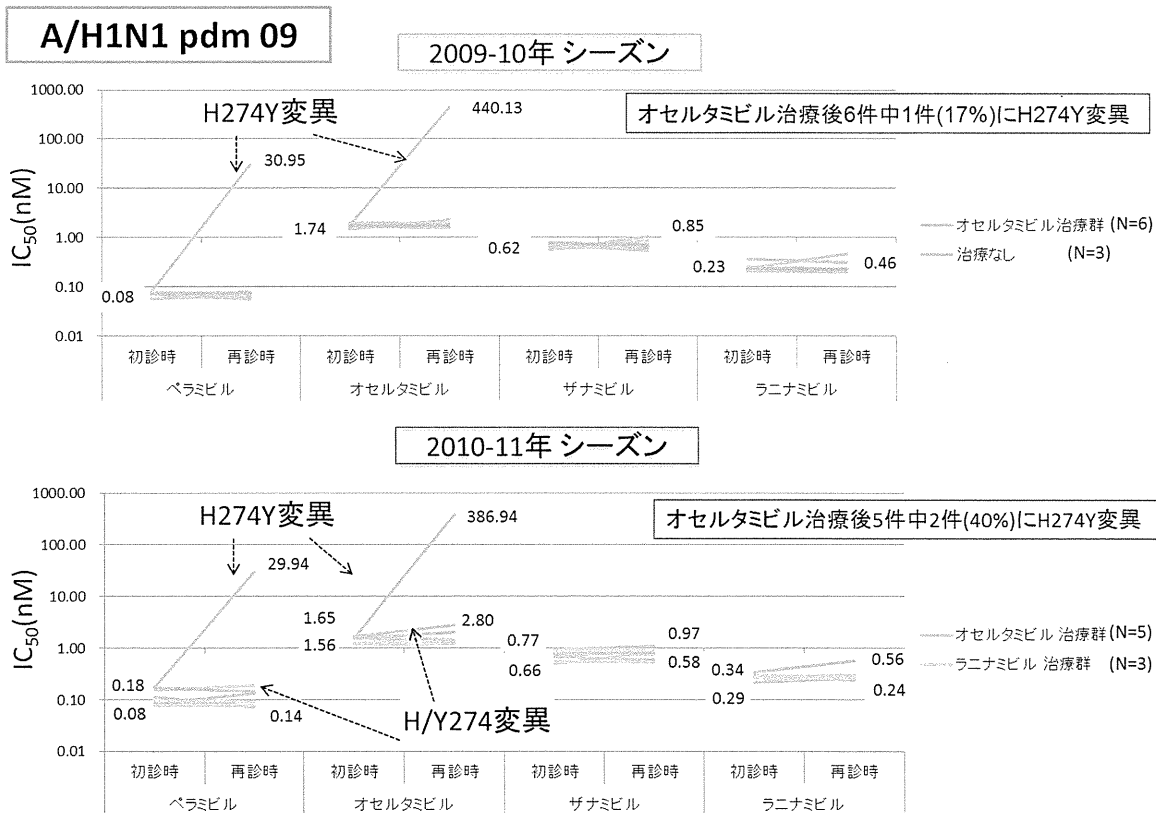


図6 薬剤投与前後における H1N1pdm09 の NA 阻害剤に対する感受性の変化



2010-11年 シーズン

図7 初診時に採取された A/H3N2 に対する NA 阻害剤薬剤感受性試験

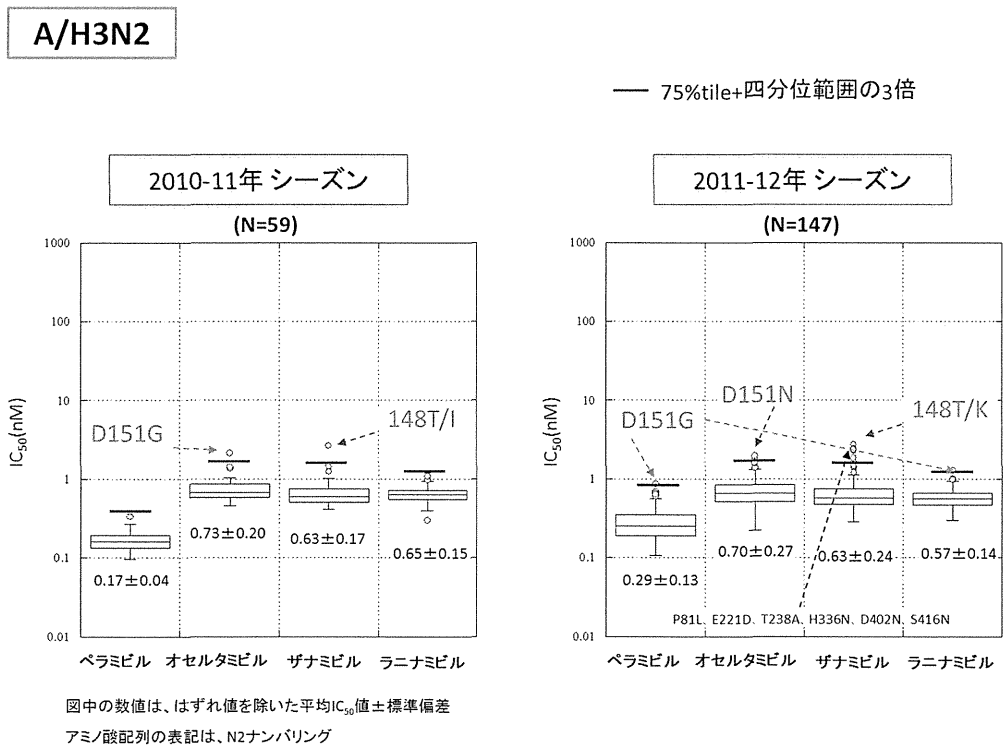


図8 薬剤投与前後における A/H3N2 の NA 阻害剤に対する感受性の変化

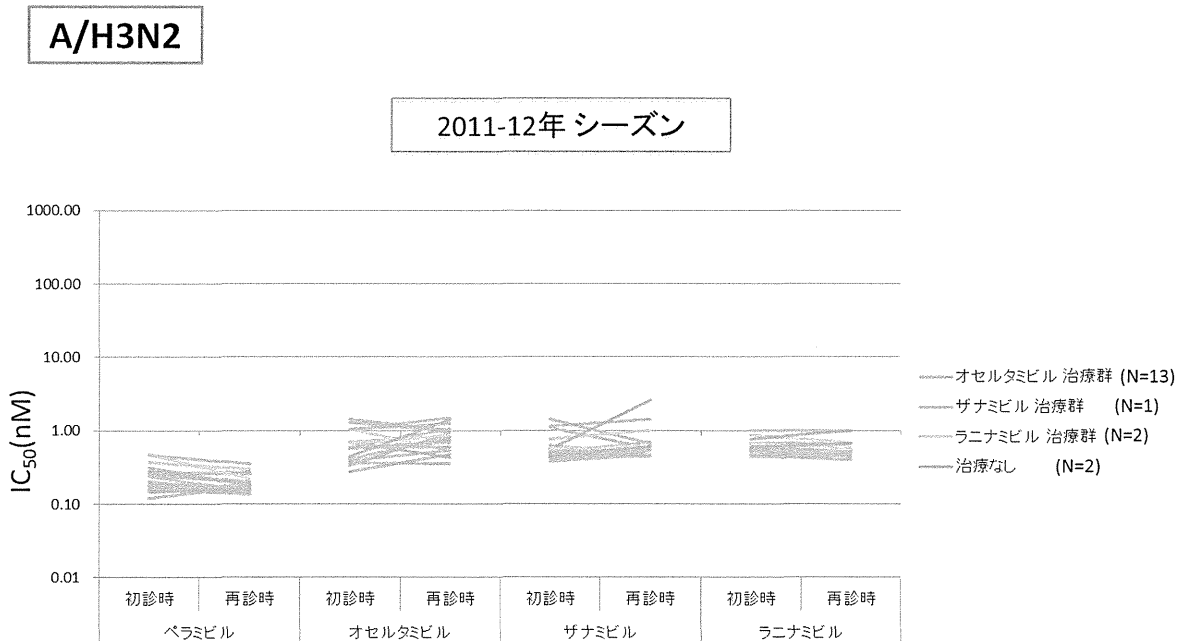


図9 初診時に採取されたB型に対するNA阻害剤薬剤感受性試験

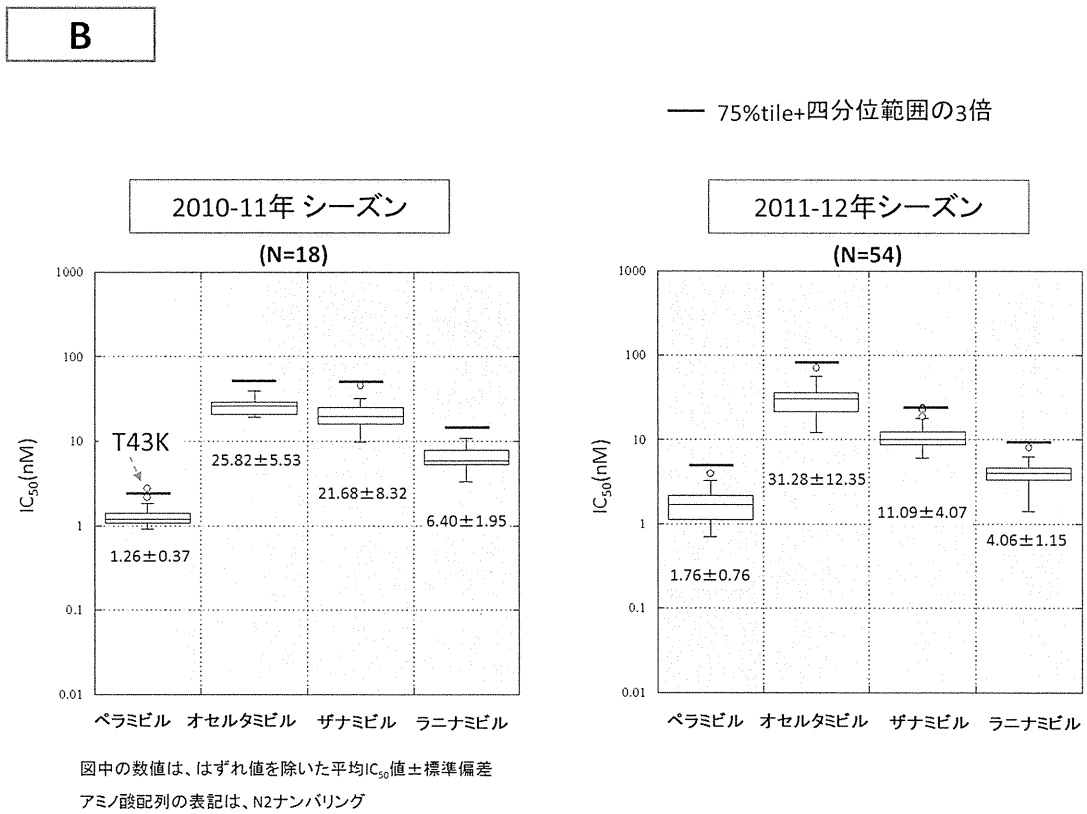


図10 薬剤投与前後におけるB型のNA阻害剤に対する感受性の変化

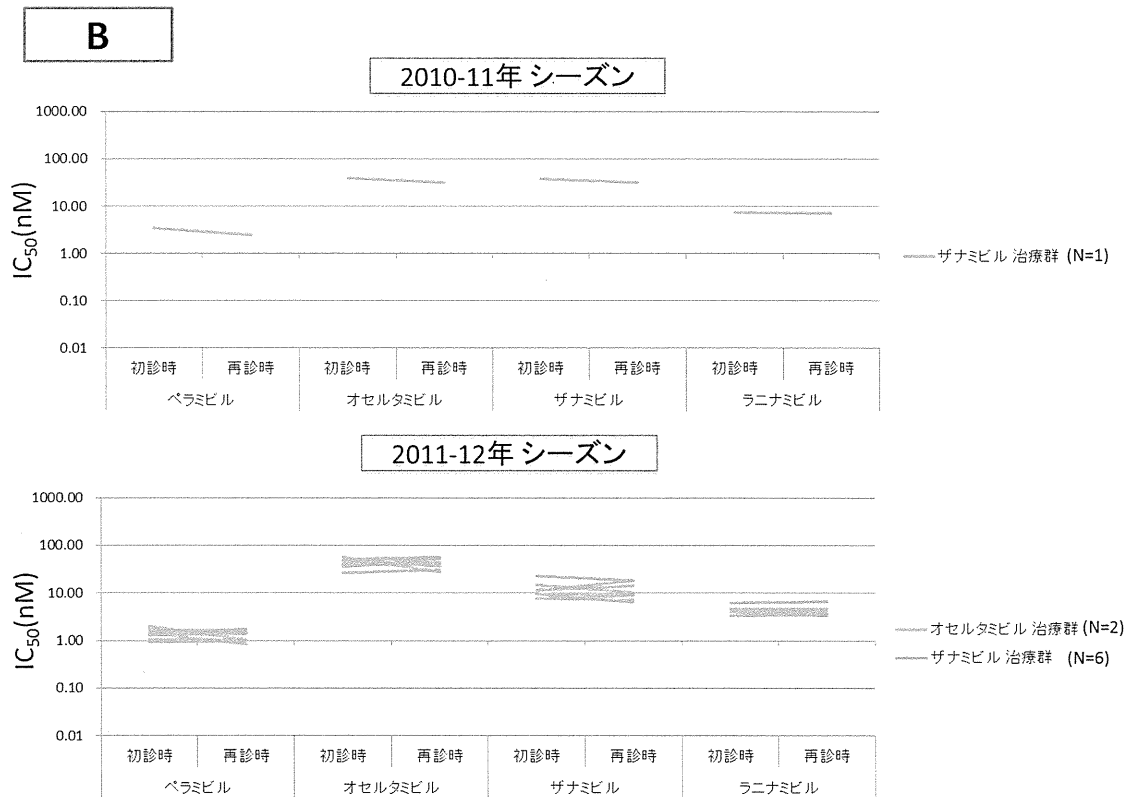


図11 小児インフルエンザA/H3N2罹患児に対して4種のNA阻害剤で治療した際の解熱効果(Kaplan-Meier曲線)

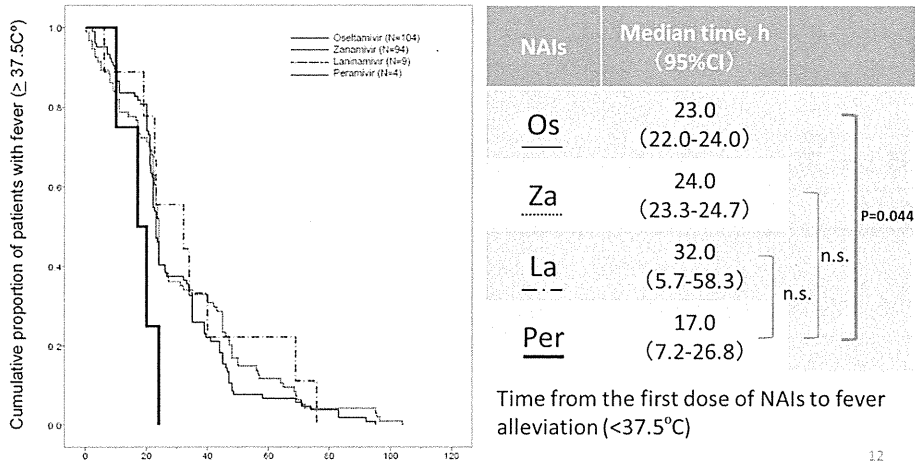


図12 A/H3N2型に罹患した0-15歳、5-10歳児が37.5度以下に解熱するまでの時間の比較(カプランマイヤー法による)

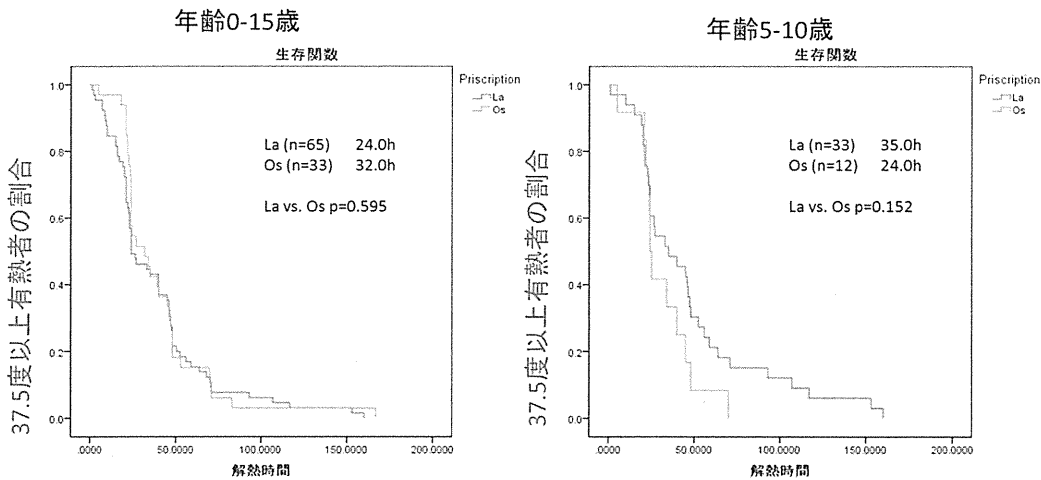


図 13 B型に罹患した0-15歳、5-10歳児が37.5度以下に解熱するまでの時間の比較

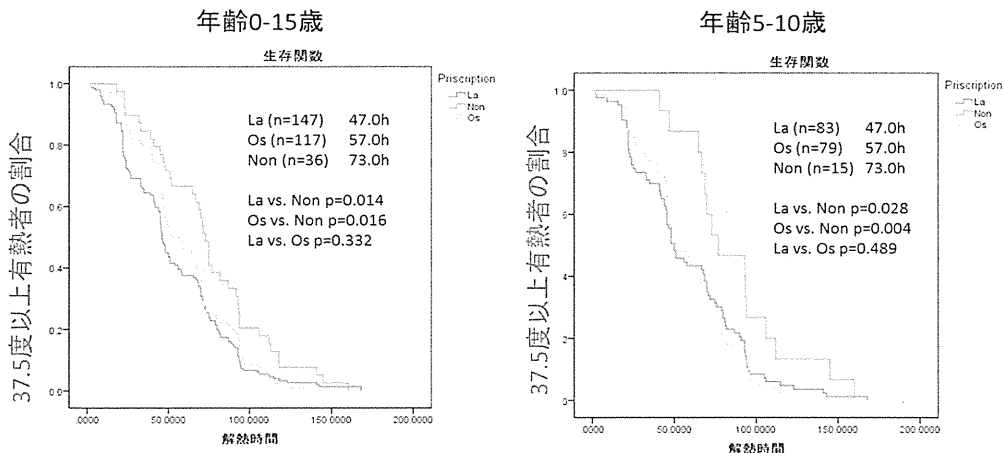


図 14 A/H3N2とB型罹患児の治療群（上段ラニナミビルと下段オセルタミビル）別の解熱時間の度数分布（0-15歳）

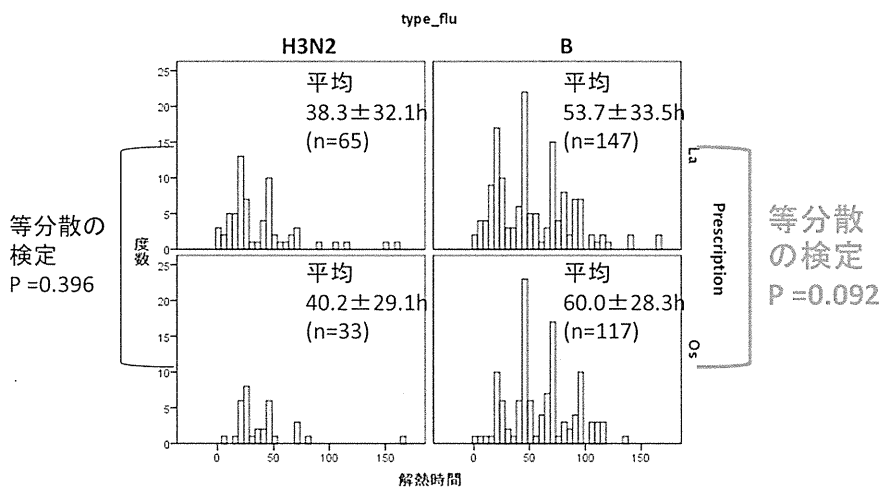
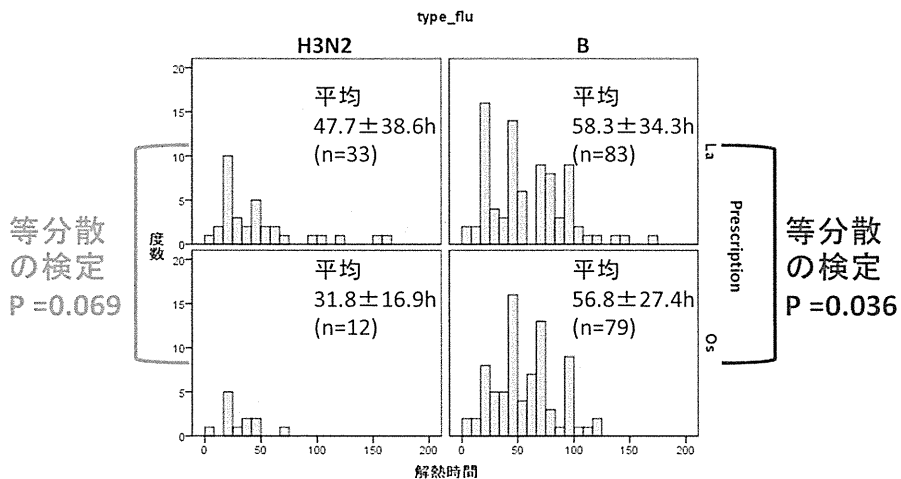


図 15 A/H3N2とB型罹患児の治療群（上段ラニナミビルと下段オセルタミビル）別の解熱時間の度数分布（5-10歳）



研究成果の刊行に関する一覧

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
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	柏木征三郎	インフルエンザ診療マニュアル(2012-2013年版)	一般社団法人日本臨床内科学会	東京	2012	
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2011-2012年シーズン版	柏木征三郎	インフルエンザ診療マニュアル(2011-2012年版)	一般社団法人日本臨床内科学会	東京	2011	
河合直樹 柏木征三郎	インフルエンザ診療マニュアル2010-2011年シーズン版	柏木征三郎	インフルエンザ診療マニュアル(2010-2011年版)	一般社団法人日本臨床内科学会	東京	2010	
工藤宏一郎	グローバルでリージョナルな国際的感染症-鳥インフルエンザ	天児 慧	アジアの非伝統的安全保障 I (編)	勁草書房	東京	2011	80-102
工藤宏一郎 間辺利江	パンデミックH1N12009発生:本ウイルスの発生場所となったメキシコの状況と近隣は?	鈴木 宏 松本慶蔵	インフルエンザの最新知識 Q&A2010	医薬ジャーナル	東京	2010	30-35

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kudo K, Binh NG, Manabe T, Co DX, Tuan ND, Izumi S, Takasaki J, Minh DH, Thuy PTP, Van TT, Hanh TT, Chau NQ	Clinical preparedness for severe pneumonia with highly pathogenic avian influenza A (H5N1): Experiences with cases in Vietnam	Respiratory Investigation	50	140-150	2012
Manabe T, Higer Iglesias AL, Vazquez Manriquez ME, Alfaro Ramos L, Leticia Valadez MEM, Takasaki J, Kudo K	Socioeconomic Factors Influencing Hospitalized Patients with Pneumonia Due to Pandemic (H1N1) 2009 in Mexico	PLoS ONE	7(7)	e40529	2012
Manabe T, Hanh TT, Lam MD, Thuy TPP, Huyen TTD, Phuong TTM, Minh DH, Takasaki J, Chau GQ, Toan QL, Kudo K	Knowledge, Attitude, Practices and Emotional Reactions among Residents of Avian Influenza (H5N1) Hit Communities in Vietnam	PLoS ONE	7(10)	e47560	2012