

20. 新しいインフルエンザ治療薬であるバロキサビル マルボキシルにおける薬剤耐性インフルエンザウイルスの 動向把握 -三重県-

○矢野拓弥 北浦伸浩（三重県保健環境研究所）

【研究目的】

新規のインフルエンザ治療薬（商品名；ゾフルーザ）である「バロキサビル マルボキシル」は、供給実績が多く、薬剤耐性ウイルスの出現頻度が高いことから、その蔓延が危惧されている。そこで三重県内のバロキサビル マルボキシル耐性ウイルスの発生状況を調査し、得られた知見を予防啓発等の情報発信に努めることで、県民の健康と公衆衛生の質の向上の一助とすることを目的とした。

【研究の必要性】

【背景】

国内で 2018 年 3 月に使用可能となった新規のインフルエンザ治療薬であるバロキサビルは 1 回の投薬で高い効果を有する画期的な新薬として期待され、2018 年には供給実績が最多を占めた。

2019 年には国内で分離された複数の A 型インフルエンザウイルスが治療薬のバロキサビルに対して耐性を獲得していたことが判明しており、今後、ヒトへの伝播および蔓延が危惧される状況である。

【意義】

公衆衛生上、継続的な薬剤耐性ウイルスの動向監視と情報提供の迅速性が求められているため、適正な使用投薬を見極める根拠を提示できるよう多くの症例解析による知見の収集および蓄積が急務である。本耐性ウイルスの早期把握に努めることは、インフルエンザ感染症対策の推進や公衆衛生の向上に資すると考えられる。

特に乳幼児や高齢者における施設内での集団発生時には、使用薬剤を早急に見極めることが必要であり、適切な投薬治療を行うためにも、本薬剤の耐性ウイルスの蔓延状況を早期に把握し、状況に応じたインフルエンザ治療薬を選択することが重要である。

【研究計画】

三重県感染症発生動向調査事業において、インフルエンザと診断された患者から分離されたインフルエンザウイルス（A 型および B 型）を対象とし、三重県内のバロキサビル耐

性ウイルスの浸潤状況を明らかにすることを目的とした。

【対象】

三重県感染症発生動向調査事業において、2018年10月～2021年3月末にインフルエンザと診断された患者から分離されたインフルエンザウイルス（A型およびB型）を対象とした。亜型の内訳はAH1N1pdm09インフルエンザウイルス（82株）、AH3亜型インフルエンザウイルス（37株）、B型インフルエンザウイルス（ビクトリア系統）（27株）を用いた。

【方法】

調査期間中に当研究所で分離されたインフルエンザウイルス（A型およびB型）について、パロキサビル耐性変異の指標¹⁾とされるPA蛋白質のアミノ酸配列(38位)がIsoleucine (I) から Threonine (T) への置換 (I38T耐性変異) の有無を以下の方法で調べた。

国立感染症研究所のPAI38T耐性変異検出法実験プロトコールに示されたRNase H2 assay技術を用いて、AH1N1pdm09インフルエンザウイルス（AH1pdm09ウイルス）、AH3亜型インフルエンザウイルス（AH3亜型ウイルス）およびB型インフルエンザウイルス（ビクトリア系統）（B型ビクトリア系統）についてRNase H-Dependent PCR(rhPCR)を行い、Allelic Discrimination解析²⁾によるPA蛋白質I38T変異の検出を行った。

一部の検体については、国立感染症研究所のインフルエンザ診断マニュアル³⁾に記載のConventional-RT-PCR法により、検出したPA遺伝子の塩基配列を調べ、38番目のアミノ酸変異の有無を確認した。

なお、I38T耐性変異が確認されたインフルエンザウイルス株は国立感染症研究所インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センターにおいてキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害剤パロキサビル薬剤等の薬剤感受性試験が実施された。

【実施内容・結果】

1. パロキサビル耐性変異の検出状況

インフルエンザウイルス各亜型のパロキサビル耐性変異検出状況を表1に示した。

調査期間中に分離されたAH3亜型ウイルス37株のうち、2018年11月に小児患者から分離されたAH3亜型ウイルス1株は、PA蛋白質の38番目のアミノ酸にIsoleucine (I) からThreonine (T) への置換 (PA I38T耐性変異) が認められた。

他の亜型のAH1pdm09ウイルス（82株）とB型ビクトリア系統（27株）については、PA I38T耐性変異は認められなかった。なお、2020年3月以降は、新型コロナウイルスの流行に伴い、全国的にインフルエンザ患者の減少傾向がみられ、本県においても調査依頼は0件であった。

2. 薬剤感受性試験

本調査で確認されたPAI38T耐性変異を有するAH3亜型ウイルス株は国立感染症研究所インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センターで、今回、調査の対象としたバロキサビルに加えて、その他の抗インフルエンザ薬（オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビル）に対する薬剤感受性試験も同時に実施された。

これらの薬剤感受性試験結果は各種感受性参照株と比較して、バロキサビルに対する感受性のみが低下していた。なお、その他の抗インフルエンザ薬については感受性参照株と同等の値を示していたことから、本調査におけるPAI38T耐性変異を有するAH3亜型ウイルス株はバロキサビル耐性ウイルス株と判定された。

表1 バロキサビル耐性変異検出状況

採取月	検査数	耐性マーカー(PA遺伝子)					
		検査数			I38T 結果 (耐性)		
		AH1 pdm09	AH3	InfB (ビクトリア系統)	AH1 pdm09	AH3	InfB
2018年	9月	0	0	0	0		
	10月	4	1	3	0		
	11月	12	10	2	0	1	
	12月	21	17	4	0		
2019年	1月	16	5	10	1		
	2月	9	2	7	0		
	3月	7	6	1	0		
	4月	4	0	2	2		
	5月	7	0	2	5		
	6月	2	0	0	2		
	7月	1	0	1	0		
	8月	1	0	1	0		
	9月	15	10	3	2		
	10月	6	4	0	2		
	11月	8	8	0	0		
	12月	13	10	0	3		
2020年	1月	11	6	1	4		
	2月	7	2	0	5		
	3月	2	1	0	1		
2020年4月 ～ 2021年3月		0	0	0	0		
計	146	82	37	27	0	1	0

3. バロキサビル耐性変異（I38T耐性変異）が検出された患者疫学情報

バロキサビル耐性変異が検出された患児に関する抗インフルエンザ薬の投薬歴等の疫学情報は、以下のとおりである。本患児は2018年11月下旬に発熱や咳症状を呈し、県内の医療機関を受診したが、検体採取前にはバロキサビルやオセルタミビルを含む抗インフルエンザ薬の投薬歴は無かった。当該医療機関では本患児以外の患者についても、バロキサビルの使用歴は確認されなかった。

【考察と今後の課題】

バロキサビル耐性変異ウイルスは、2019年1月～2月に神奈川県でバロキサビル未投与の患者から分離されたAH3亜型ウイルス2株は、国内最初の報告事例であった⁴⁾。

今回、本県におけるバロキサビル耐性変異ウイルスの調査を実施したところ、前述の神奈川県で分離されたバロキサビル耐性ウイルスの報告事例より以前の2018年11月に採取されたバロキサビル未投与の小児患者よりPAI38T耐性変異を有するAH3亜型ウイルス株が分離された。

本事例の患児はバロキサビル未投与例であることから、患児の体内で選択的にPA I38T耐性変異を獲得したことは否定された。

すなわち、バロキサビル耐性変異ウイルスがヒトからヒトへ伝播し、本患児が罹患し発症した可能性が示唆された。

国内における薬剤耐性ウイルスの蔓延は、2008/09 シーズンに、オセルタミビル耐性ウイルス（AH1N1 ウイルス：A/ソ連型）が急速に拡散し、国内検出は99.6%でオセルタミビル耐性ウイルスに置き換わりがみられた⁵⁾。2009年に出現した新型インフルエンザウイルス（AH1N1pdm09）においても、豪州（2011年）および札幌市（2014年）でオセルタミビル耐性ウイルスの地域流行^{6,7)}がみられた。これらの過去の背景から、今後の薬剤耐性ウイルスの出現時には適切な治療薬剤の選択が必要であることが考えられるが、2019年に発生した新型コロナウイルスの流行拡大以降、季節性インフルエンザの大幅な減少がみられている。その要因の1つとして新型コロナウイルス禍の人々のソーシャルディスタンスが与える影響が鑑みられるが、長期化につれて、人流抑制やその効果は低減しつつあることに加えて、近年の季節性インフルエンザの減少に伴いヒトの免疫状態の低下等で、今後の再流行と流行の大規模化が懸念される状況である。

今後の課題として、本薬剤は比較的新しい抗インフルエンザ薬であるため、薬剤耐性ウイルスに関する国内における知見は、現在のところ多くはない。バロキサビル耐性ウイルスの動向を早期に捉えるための動向監視は、蔓延防止や治療方針の決定等の感染症対策の根拠となり、医療機関等での治療薬の選択に有用なものと考えられることから、バロキサビル耐性ウイルスの早期把握可能な監視体制の強化が必要である。また、早期把握で得られた薬剤耐性ウイルスの発生状況は、三重県内の医師会等の情報網を活用し情報提供および感染拡大防止の予防啓発を行うことで、インフルエンザ感染症対策の推進や公衆衛生の向上に資するものと思われる。

【参考文献】

- 1) Omoto S, Speranzini V, Hashimoto T et al. Characterization of influenza virus variants induced by treatment with the endonuclease inhibitor baloxavir marboxil. *Sci Rep* **8**: 9633. (2018)
- 2) 国立感染症研究所：PAI38T耐性変異検出法 実験プロトコール. 2019年9月 Ver.1
- 3) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル（第3版）平成26年9月.
- 4) Takashita E, Kawakami C, Ogawa R et al. Influenza A(H3N2) virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a polymerase acidic subunit I38T substitution detected from a hospitalised child without prior baloxavir treatment, Japan, January 2019. *Euro Surveill* **24**: pii=1900170 (2019)
- 5) Ujike M, Shimabukuro K, Mochizuki K et al : Oseltamivir-resistant A/H1N1 viruses during the 2007-2009 influenza seasons, Japan. *Emerg Infect Dis* **16** : 926-935 (2010)

- 6) A. C. Hurt, K. Hardie, N. J. Wilson et al : Characteristics of a Widespread Community Cluster of H275YOseltamivir-Resistant A(H1N1)pdm09 Influenza in Australia. J Infect Dis **206** : 148-157 (2012)
- 7) Takashita E, Ejima M, Itoh R et al : A community cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November to December 2013. Euro Surveill **19**:pii: 20666 (2014)

【謝 辞】

本稿を終えるにあたり、研究助成を頂きました公益財団法人大同生命厚生事業団に深謝致します。

薬剤感受性試験を実施して頂きました国立感染症研究所インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センターの研究員の方々に深謝致します。

三重県感染症発生動向調査事業で検体採取を担当された定点医療機関の諸先生方および関係各位にお礼申し上げます。

【経費使途明細】

使 途	金 額
・ チェック付きアルミ袋 (アルミラミジップ) AL-E 100 入り	3,000 円
・ Super SriptIII one-step RT-PCR System with platinum Taq 100 回 ライフテクノロジーズ 12574026	99,880 円
・ rhAmp Genotyping 試薬類 一式	48,070 円
・ Bigdye Terminator V3.1 100 反応 4337455	149,050 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円