

福岡県における2008/2009シーズンのオセルタミビル耐性インフルエンザウイルスの出現

世良暢之・中山志幸・石橋哲也・千々和勝己

平成20年度（2008/2009シーズン）において福岡県ではインフルエンザ集団発生事例より A/H1N1亜型が8株、A/H3N2亜型が1株、感染症発生動向調査事業により A/H1N1亜型が1株、A/H3N2亜型が3株及び B 型が3株分離された。A/H1N1亜型9株のうち解析できた8株全てにオセルタミビル耐性に必要なアミノ酸変異が認められ、平成19年度がすべて感受性であったことと比較すると、わずか一年で状況が急変していた。A/H1N1亜型は NA 遺伝子の系統樹上でクレード2B 及びクレード2C に、さらにクレード2B は北欧系統とハワイ系統に細分され、平成20年度の8株はすべて北欧系統に属していた。オセルタミビル使用量の非常に多い日本においては耐性株による集団発生事例の発生が憂慮されており、今後も耐性株出現の監視を続けていく必要があると考えられる。

[キーワード：インフルエンザウイルス、オセルタミビル耐性]

1 はじめに

ノイラミニダーゼ（Neuraminidase, NA）蛋白質の275番目のアミノ酸がヒスチジン（Histidine）からチロシン（Tyrosine）に置換し（H275Y と表記する）、インフルエンザ治療に用いられているノイラミニダーゼ阻害薬（Neuraminidase Inhibitor, NAI）であるオセルタミビル（Oseltamivir、商品名タミフル）に対して強い耐性となった A 型インフルエンザウイルス H1N1亜型（以下、A/H1N1亜型）が、2007年11月頃からヨーロッパ諸国全体で高頻度で検出されるようになった¹⁾。このため、世界保健機関（World Health Organization, WHO）はグローバルインフルエンザサーベイランスネットワークにより全世界的な NAI 耐性株サーベイランスを強化し、各国における耐性株出現状況を報告するように要請した²⁾。このような背景から、日本においても耐性株の高頻度出現が危惧され、国立感染症研究所からの依頼により、平成20年度（2008/2009シーズン）に福岡県内で分離された A/H1N1亜型に対する耐性変異の有無を調査した。

2 検査方法

オセルタミビルに対する耐性変異の解析には、耐性の獲得に重要であると報告されている NA 遺伝子のアミノ酸変異の有無（H275Y）を調べることで行った。平成20年度に分離された A/H1N1亜型9株（インフルエンザ集団発生事例より分離された8株、感染症発生動向調査事

業より分離された1株）について、変異の有無を検討した。オセルタミビルの標的蛋白質である NA のアミノ酸をコードする遺伝子領域を RT-PCR 法により増幅し、予想された PCR 産物が得られた場合は、ダイレクトシーケンシング法により275番目のアミノ酸変異の有無を調べ、オセルタミビル耐性の指標とした。PCR に用いたプライマーは N1-F671-693

(TGAGAACACAAGAGTCTGAATGT) 及び N1-R1079-1057 (CCTATCCAAACACCATTACCATA)、反応は RT 反応条件50℃で30分間、最初の変性反応94℃で2分間、PCR 条件として94℃で2分間、45℃で1分間、72℃で2分間を30サイクルとして実施し、最後の伸長反応は72℃で10分間行った。得られた塩基配列は遺伝子配列解析ソフトウェア SeqScape (Applied Biosystems 社) 及び MegAlign (DNASTAR 社) により解析、分子系統樹解析を行った。

3 結果

平成20年度は4事例のインフルエンザ集団発生事例で25検体の咽頭拭い液が搬入され、3事例から A/H1N1亜型が8株、1事例から A/H3N2亜型が1株分離された。また感染症発生動向調査事業によりインフルエンザ感染症疑いで14検体の咽頭拭い液が搬入され、A/H1N1亜型が1株、A/H3N2亜型が3株及び B 型3株が確認され、今年度のインフルエンザ感染症は平成19年度に引き続き A/H1N1亜型が流行した³⁾。

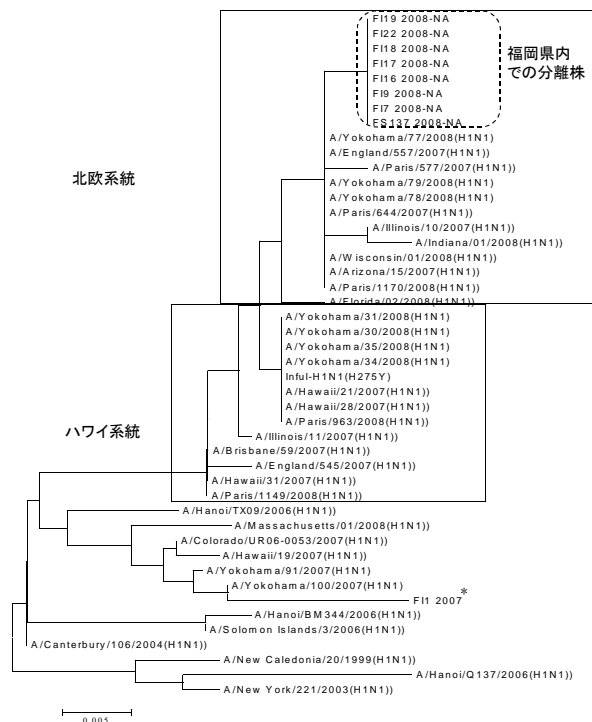


図1 2008/2009シーズンのA型インフルエンザウイルス H1N1亜型のNA遺伝子の分子系統樹解析
塩基配列は「F1」（集団発生事例）または「FS」（感染症発生動向調査事業）に続く検体番号、流行シーズン及び解析したノイラミニダーゼ遺伝子「NA」で表記した。感受性株として平成19年度（2007/2008シーズン）に分離された株（F11 2007（*で示す））を用いた。

平成20年度に分離された A/H1N1 亜型9株のうち解析できた8株全てに薬剤耐性に必要なアミノ酸変異が認められ、平成19年度は A/H1N1 亜型55株全てが薬剤感受性であったことと比較すると、わずか一年で状況は一変していた。全国的に見ても平成19年度はオセルタミビル耐性 A/H1N1 亜型の発生頻度は2.6%（1,734株中45株）であったのに対し、平成20年度は99.6%（1,239株中1,237株）となり⁴⁾、国内においても耐性 A/H1N1 亜型が劇的に増加し、全国的に蔓延していることが明らかとなった。また、WHO によると世界各国における耐性 A/H1N1 亜

(英文要旨)

Emergence of oseltamivir resistant influenza A(H1N1) in Fukuoka prefecture in the 2008-2009 season

Nobuyuki SERA, Shiko NAKAYAMA, Tetsuya ISHIBASHI, Katsumi CHIJIWA

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

In the 2008-2009 season, eight Influenza A (H1N1) viruses isolated in Fukuoka Prefecture were all resistant to oseltamivir. The percentage of oseltamivir resistant Influenza viruses has drastically increased, compared to that in the 2007-2008 season. All eight oseltamivir-resistant Influenza viruses were classified into clade 2B, and showed a genetic relationship with European strains.

[Key words ; Influenza virus, oseltamivir resistant]

型は2006/2007シーズン16%、2007/2008シーズン44%、2008/2009シーズン92%と急速に広がっており、アメリカで97%、ヨーロッパ諸国で98%と世界各地で高頻度で検出されるようになってきている⁵⁾。

A/H1N1 亜型は NA 遺伝子の系統樹上でクレード2B 及びクレード2C の2つのサブクレードに分かれ、更にクレード2B は北欧系統とハワイ系統に細分される⁴⁾。当所で平成20年度分離された8株はすべて北欧系統に属していた(図1)。全国で分離された耐性 A/H1N1 亜型もすべて北欧系統に属していたことが報告されている⁴⁾。

これまでのところ日本では耐性 A/H1N1 亜型の大規模流行はないが、オセルタミビル使用量の非常に多い日本においても耐性 A/H1N1 亜型による集団感染事例の発生が憂慮されており、今後も耐性株出現の監視を続けていく必要があると考えられる。

文献

- 1) European Centre for Disease Prevention and Control (http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/Pages/Antivirals_and_Antiviral_Resistance_Influenza.aspx).
- 2) World Health Organization (http://www.who.int/csr/disease/influenza/h1n1_table/en/index.html), 2009. 5. 21.
- 3) 福岡県結核・感染症発生動向調査事業資料集平成20年, 平成21年3月.
- 4) 世界各国の A/H1N1 耐性出現頻度 (http://www.who.int/csr/disease/influenza/h1n1_table/en/index.html).
- 5) 2008/2009 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, 30, 101-106, 2009.